

El tratamiento hidrotérmico afecta el contenido de ácido ascórbico y otros parámetros de calidad en mango 'Ataulfo'

Armida Andrea Gil-Salido¹
Ana Paulina Sortillón-Sortillón¹
Rosalba Contreras-Martínez²
Tomás Osuna-Enciso²
Manuel Alonzo Báez-Sañudo²
María Auxiliadora Islas-Osuna¹

1 Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, AC-Laboratorio de Genética y Biología Molecular de Plantas. Carretera Gustavo Enrique Astiazarán Rosas 46, Col. La Victoria, Hermosillo, Sonora, México. CP. 83304. (andrea.gil.220@estudiantes.ciad.mx; ana.sorts@gmail.com).

2 Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, AC-Unidad Culiacán. Culiacán, Sinaloa, México. CP. 80110. (rcontreras@ciad.mx; mabaez@ciad.mx; osunae.tomas@gmail.com).

Autor para correspondencia: islasosu@ciad.mx.

Resumen

El ácido L-ascórbico, es un antioxidante natural producido por las plantas y sus frutos. La abundancia de este ácido durante el desarrollo y la maduración poscosecha del mango (*Mangifera indica* L.) depende de factores genéticos y climáticos. Los mangos se someten a un tratamiento hidrotérmico cuarentenario, antes de su exportación para control de la mosca de la fruta. El un tratamiento hidrotérmico cuarentenario, consiste en sumergir los mangos en agua a 46.1 °C (118 °F) durante 60 a 120 min dependiendo del tamaño, afectando el contenido de ácido L-ascórbico y otros parámetros de calidad del fruto. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del THC en el contenido de ácido L-ascórbico, la firmeza, el color y la expresión de genes de biosíntesis y reciclaje de ácido L-ascórbico durante la postcosecha del mango. Los mangos 'Ataulfo' se cosecharon en madurez fisiológica en Escuinapa, Sinaloa en el año 2019, se sometieron a THC (46.1 °C, 75 min), hidrogenofriado (25 °C, 30 min) y se almacenaron a 20 °C por nueve días. Los mangos sometidos al THC mostraron reducción en el contenido de ácido L-ascórbico ($p \neq 0.05$). La firmeza de la pulpa se comportó similar en frutos con THC y en frutos testigo, mientras que el color externo de los frutos con un tratamiento hidrotérmico cuarentenario e indicó un proceso de maduración adelantado respecto a los frutos testigo ($p \leq 0.05$). Los niveles de transcritos MiGME1, MiGME2, MiGGP2 y MiMDHAR aumentaron en respuesta al tratamiento, lo que sugiere la activación de la ruta de síntesis y reciclaje para contrarrestar el estrés abiótico ocasionado por el calor al que se sometieron los mangos.

Palabras clave:

Mangifera indica, estrés por calor, expresión de genes, maduración.

Introducción

El ácido L-ascórbico (L-AA) es un antioxidante importante para el crecimiento, división celular, desarrollo floral y síntesis de coenzimas hormonales en plantas; además participa en las respuestas al estrés abiótico (Smirnoff, 2018; Fenech *et al.*, 2019).

Se ha observado que la maduración postcosecha y las condiciones de estrés abiótico, como el calor, pueden disminuir el contenido de L-AA en las frutas (Mditshwa *et al.*, 2017). Como resultado, existe una creciente necesidad de comprender los fundamentos moleculares del metabolismo del L-AA para desarrollar frutas más nutritivas y cultivos tolerantes al estrés abiótico en el contexto de los desafíos del cambio climático (Macknight *et al.*, 2017).

La principal ruta de síntesis de L-AA descrita en plantas es la de Smirnoff-Wheeler (SW) (Wheeler *et al.*, 1998) conformada por nueve reacciones enzimáticas descubiertas en *Arabidopsis thaliana* (Dowdle *et al.*, 2007). En frutos como kiwi se ha observado que las enzimas GDP-manosa epimerasa (GME) y GDP-galactosa fosforilasa (GGP), son puntos clave dentro de la ruta SW, de tal manera que la sobreexpresión o mutación en sus genes conllevan un aumento o una disminución en la acumulación de L-AA, respectivamente (Tao *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2022).

Además, el L-AA consumido durante el estrés oxidativo es capaz de regenerarse mediante la ruta del reciclaje donde participan enzimas mono (MDHAR) y dehidroascorbato (DHAR) reductasas y ascorbato oxidasas, manteniendo la homeostasis del L-AA en la célula vegetal (Paciolla *et al.*, 2019).

Los frutos de mango 'Ataulfo' son ricos en L-AA y son sometidos a tratamiento hidrotérmico (THC) que consiste en sumergir los mangos en agua caliente (46.1 °C) durante 60-120 min dependiendo del peso del fruto. Este tratamiento garantiza la calidad de la fruta, previniendo la infestación de plagas eliminando las larvas de moscas del género *Anaestrephe* (Hernández *et al.*, 2012; USDA, 2017).

Si bien hay mucha información sobre los cambios fisiológicos debidos a los tratamientos térmicos en el mango, hay estudios limitados sobre el metabolismo y síntesis de L-AA en las frutas en la etapa postcosecha. Existen reportes sobre la respuesta molecular de las vías metabólicas del L-AA con respecto al contenido del antioxidante durante una variedad de condiciones de estrés, incluyendo luz (Jiang *et al.*, 2018), calor (Li *et al.*, 2016), sequía y sal (Wang *et al.*, 2017; Galli *et al.*, 2019), mostrando niveles de expresión diferencial de genes relacionados con el L-AA como resultado del factor estresante.

Estudios previos en frutos de mango 'Ataulfo' sometido a THC revelan una aceleración del proceso de maduración e inducción de genes relacionados con el choque térmico y el estrés oxidativo (Dautt-Castro *et al.*, 2018). Javed *et al.* (2022) mostraron una disminución en la capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y L-AA en el día 21 de almacenamiento en frutos de mango 'Chenab Gold' sometidos a THC. Estos hallazgos sugieren que hay una respuesta molecular hacia un proceso oxidativo desencadenado por el calor, el cual les causa un estrés abiótico a los frutos.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del THC en el contenido de L-AA, la firmeza, el color de los frutos y la expresión de genes de biosíntesis y reciclaje en mango 'Ataulfo' en diferentes estados de madurez.

Materiales y métodos

Los frutos de mango 'Ataulfo' se recolectaron en la Huerta Díaz en Escuinapa, Sinaloa, México en estado de madurez fisiológica (120 días después de la floración). Se consideró uniformidad de color y peso (aproximadamente 250 g) y la ausencia de daños aparentes en los frutos, los cuáles fueron transportados a CIAD-Culiacán. Se clasificaron aleatoriamente y se sometieron a condiciones del THC (inmersión del fruto en agua caliente a 46.1 °C por 75 min), seguida de hidro enfriamiento en agua a 25 °C por 30 min (USDA, 2017).

Los frutos con THC y un grupo testigo (sin THC) se almacenaron a 20 °C durante nueve días (madurez de consumo). Se trabajó por triplicado utilizando un fruto como una unidad experimental. Los frutos se muestrearon 1 h después de aplicado el tratamiento (día 0), y a los días 1, 2, 5 y 9, según parámetros de firmeza y color. La pulpa de la fruta se congeló de inmediato y se mantuvo a -20 °C hasta su procesamiento para el análisis del contenido de L-AA y extracción de ácido ribonucleico (ARN) total para evaluación de expresión génica.

Determinación del contenido de ácido L-ascórbico por cromatografía líquida de alta presión (HPLC)

Se cuantificó el contenido total de L-AA mediante HPLC según Doner y Hicks (1981) con modificaciones. El L-AA se extrajo de 10 g de muestra de pulpa utilizando una solución de extracción de 0.375 mol L⁻¹ de ácido metafosfórico disuelto en una solución de ácido acético glacial al 8%. Se utilizó una columna analítica NH₂ (250 x 4.6 mm de diámetro interno, tamaño de partícula de 5 µm e inyector de asa de 10 µl) y una fase móvil de 0.0125 mol L⁻¹ de fosfato sódico monobásico disuelto en una solución de acetonitrilo al 75%. La determinación de L-AA total fue por luz UV-visible a una longitud de onda de 268 nm y se utilizó ascorbato de sodio como estándar. El L-AA se presenta como mg por 100 g de peso fresco (mg 100 g⁻¹ PF).

Determinación de firmeza y color de cáscara y de pulpa

La firmeza de la pulpa se midió por duplicado en cada fruto en la zona ecuatorial utilizando un texturómetro digital Lloyd-Ametek LS1 (USA) con una punta de 8 mm de diámetro. Los resultados se expresaron en Newtons (N) (Cárdenas-Coronel *et al.*, 2012).

El color externo (cáscara) e interno (pulpa) de los frutos se midieron con un colorímetro portátil Konica Minolta CM-700d (USA), utilizando el espacio de color CIE L*a*b*. El color de la cáscara se midió en la zona ecuatorial en lados opuestos del fruto, mientras que el color de la pulpa se tomó en dos puntos opuestos alrededor de la semilla (Siller-Cepeda *et al.*, 2009). Se calcularon los parámetros ángulo Hue (°Hue), luminosidad (L*) y cromaticidad (Konica Minolta, 2007).

Extracción de ARN total, purificación y síntesis de ácido desoxirribonucleico copia (ADNc)

El ARN total se extrajo de 0.5 g de pulpa de mango pulverizado en nitrógeno líquido utilizando el método propuesto por López-Gómez y Gómez-Lim (2019). A la muestra se le adicionó 1 ml de tampón de lisis (dodecil sulfato de sodio 2%, ácido etilendiaminotetraacético 50 mM, Tris-Base 150 mM, β-mercaptoetanol 1%, pH 7.5, ajustado con ácido bórico 1M). Se adicionó cloroformo-alcohol isoamílico (49:1) y fenol-cloroformo (1:1), se mezcló y centrifugó a 13 000 x g.

El ARN se precipitó agregando cloruro de litio 3 M y se mantuvo a -20 °C durante la noche. Al día siguiente, la muestra se centrifugó durante 10 min a 20 000 x g. El pellet obtenido se lavó dos veces con etanol al 75% y se resuspendió en agua tratada con dietilpirocarbonato. La integridad del ARN se confirmó mediante electroforesis en gel de agarosa en condiciones desnaturizantes. El ARN total se purificó para eliminar ADN residual utilizando DNasa I (Roche, USA). El ADNc se sintetizó a partir de 5 µg de ARN total utilizando el juego de reactivos SuperScript III RT (Invitrogen, USA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Evaluación de expresión génica por amplificación en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR)

Las qPCR se realizaron utilizando 40 ng de ADNc de los frutos de mango tratados y testigos. Cada réplica biológica se midió por triplicado mediante qPCR utilizando la mezcla de reacción iTaq Universal SYBRGreen (Bio-Rad, USA) y el termociclador en tiempo real StepOne (Applied Biosystems, USA) (Dautt-Castro *et al.*, 2018).

La expresión génica se calculó con el método $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Schmittgen y Livak, 2008) y se normalizó con el gen constitutivo gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH). Los datos de los días 0, 1, 2 y 5 se compararon respecto a los datos del día 9 de almacenamiento (calibrador) mediante la fórmula: $\Delta\Delta Ct = (Ct \text{ gen interés} - Ct \text{ GAPDH})_{\text{Día } 0,1,2,5} - (Ct \text{ gen interés} - Ct \text{ GAPDH})_{\text{Día } 9}$.

Los cambios de expresión relativa de cada gen se calcularon utilizando el método $2^{-\Delta\Delta CT}$, en donde $\Delta\Delta CT = (Ct \text{ gen interés} - Ct \text{ GAPDH})_{\text{tratamiento}} - (Ct \text{ gen interés} - Ct \text{ GAPDH})_{\text{testigo}}$. Si el primer ΔCt es mayor que el segundo ΔCt , el valor de $2^{-\Delta\Delta CT}$ será <1 , indicando una reducción en los niveles de expresión del gen por efecto del THC aplicado. Para evaluar el nivel de reducción en la expresión se obtiene el inverso negativo del $2^{-\Delta\Delta CT}$. Los pares de iniciadores para MiGME1, MiGME2, MiGGP1, MiGGP2, MiDHAR y MiMDHAR fueron diseñados utilizando la herramienta PrimerQuest (Integrated DNA Technologies, USA) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Enzimas de síntesis y reciclaje de ácido L-ascórbico de mango y secuencias de iniciadores para evaluar expresión de los ARNm MiGME1, MiGME2, MiGGP1, MiGGP2, MiDHAR y MiMDHAR.

Enzima	Clave de acceso GenBank	Tamaño (aa)	%ID, clave de acceso NCBI	Clave acceso ARNm <i>M. indica</i> 'Ataulfo'	Secuencia de iniciadores (5'-3')
MiGME1	UPT49960.1	376	GDP-mannose 3,5-epimerase 2 [<i>Carica papaya</i>] (97.1%) XP-021891285.1	MW447158.1	Fw GAGCTTGAGAGGGAACCTTTAC Rv TTCAACCGACGAGCAATG
MiGME2	UPT49961.1	355	GDP-mannose 3,5-epimerase 2 [<i>Acer yangbiense</i>] (95%) TXG72149.1	MW447159.1	Fw CCCATTGAGCACATTCCT Rv CAGCCCATCCTTCAGTTT
MiGGP1	UPT49962.1	370	GDP-L-galactose phosphorylase 2-like isoform X1 [<i>Pistacia vera</i>] (81%) XP-031249525.1	MW447160.1	Fw CAGAATCAACCACCCTGAAG Rv GATGGCACCATTAGGTACAG
MiGGP2	UPT49963.1	449	GDP-L-galactose phosphorylase 2 [<i>Pistacia vera</i>] (91%) XP-031286515.1	MW447161.1	Fw GAAAAGGAGAATAGCGAGCC Rv CACAGGCAGTGACATCATAG
MiDHAR	UPT49964.1	213	Glutathione S-transferase DHAR2-like [<i>Citrus sinensis</i>] (81%) XP-006486019.1	MW447162.1	Fw TTACAAGGCACACCACATC Rv GAGTCAGGCACCCATTTATC
MiMDHAR	UPT49965.1	434	Monodehydroascorbate reductase [<i>Pistacia vera</i>] (95%) XP-031249639.1	MW447163.1	Fw GGGTGACACAGTGCTATTT Rv CCAACAACCTTCCCATCTT

Los ARNm fueron obtenidos del transcriptoma de *Mangifera indica* 'Ataulfo' (GenBank PRJNA286253). Los iniciadores fueron diseñados con base en la secuencia nucleotídica de las regiones codificantes de los genes de interés usando la herramienta PrimerQuest. Longitud= longitud del producto del gen o proteína (secuencia de aminoácidos), %ID= porcentaje de identidad.

Análisis estadístico

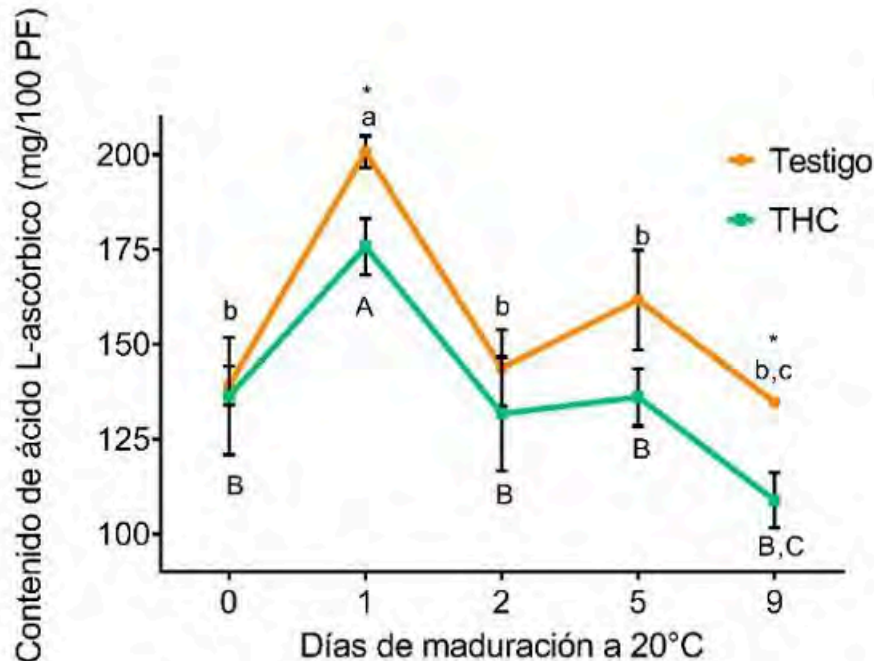
Se realizó un Anova considerando como factores el THC y las etapas de maduración, las variables de respuesta fueron el contenido de L-AA, la firmeza, el color externo y color interno y la expresión génica relativa. En caso de diferencias significativas se realizó la prueba Tukey con un nivel de confianza de 0.95. Se utilizaron los programas computacionales NCSS (2022) y GraphPad Prism 7 para el análisis estadístico y los gráficos respectivamente. Los datos representan la media \pm EE (error estándar de la media).

Resultados y discusión

Contenido de L-AA en mango 'Ataulfo' con THC

El contenido total de L-AA ($p \leq 0.05$) disminuyó aproximadamente el 12% por efecto del THC en los frutos al día 1 y día 9 (Figura 1). El contenido de L-AA fluctuó de 200.75 a 100.8 mg 100 g⁻¹ PF desde su pico (día 1, testigo) hasta el más bajo (día 9, THC). La reducción del contenido de L-AA asociada al tratamiento (46.1 °C, 75 min) es consistente con los hallazgos de Djoua *et al.* (2009), en condiciones similares para mango 'Keitt'.

Figura 1. Efecto del THC en el contenido de ácido L-ascórbico (mg 100 g⁻¹ de peso fresco) de fruto de mango durante su maduración postcosecha a 20°C. Los datos representan la media de tres replicas biológicas \pm el error estándar. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los días de maduración postcosecha en los mangos testigo. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los días de maduración postcosecha en los mangos tratados. Diferencias significativas entre mangos testigo y mangos tratados de cada día están indicadas con asterisco. Prueba de Tukey ($p < 0.05$).



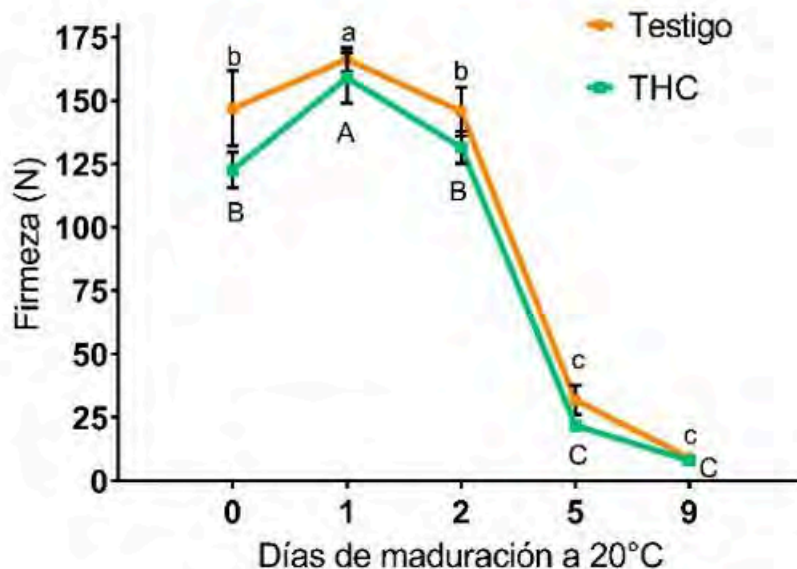
Reportes anteriores muestran valores de L-AA de 158.5 mg 100 g⁻¹ PF (Robles-Sánchez *et al.*, 2009) para este cultivar. Manthey y Perkins-Veazie (2009) reportaron valores de 125.4 \pm 6.4, 24.7 \pm 7.9, 25.6 \pm 4.9, 19.3 \pm 4.8 y 31 \pm 5.2 mg 100 g⁻¹ PF, para los cultivares 'Ataulfo', 'Keitt', 'Kent', 'Tommy Atkins' y 'Haden', respectivamente.

Estudiar las diferencias detrás de la acumulación de este antioxidante en cultivares, variedades y especies ricas en L-AA resulta de interés (Mellidou *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2016; Chiaiese *et al.*, 2019). El mango 'Ataulfo' al ser un cultivo comercial de alto valor, es un candidato prospectivo para este propósito, ya que muestra altas concentraciones de L-AA a pesar del efecto del THC, cubriendo la cantidad diaria recomendada para mujeres y hombres (75 y 90 mg día⁻¹ respectivamente) (Castillo-Velarde, 2019).

Efecto del THC en la firmeza y el color de los mangos 'Ataulfo'

En la Figura 2 se puede observar un comportamiento igual en la pérdida de firmeza a lo largo del almacenamiento poscosecha en los mangos testigo y tratados. En las frutas a los días 0 y 2 se mantuvo la firmeza, con un pico particular al día 1. Pasado el día 2 de almacenamiento poscosecha, la firmeza disminuyó alrededor de 95% entre los frutos al día 1 y los frutos al día 9 ($p < 0.05$).

Figura 2. Efecto del THC en la firmeza (Newton) de fruto de mango durante su maduración poscosecha a 20°C. Los datos representan la media de tres replicas biológicas ± el error estándar. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los días de maduración poscosecha en los mangos testigo. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los días de maduración poscosecha en los mangos tratados. Diferencias significativas entre mangos testigo y mangos tratados de cada día están indicadas con asterisco. Prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).



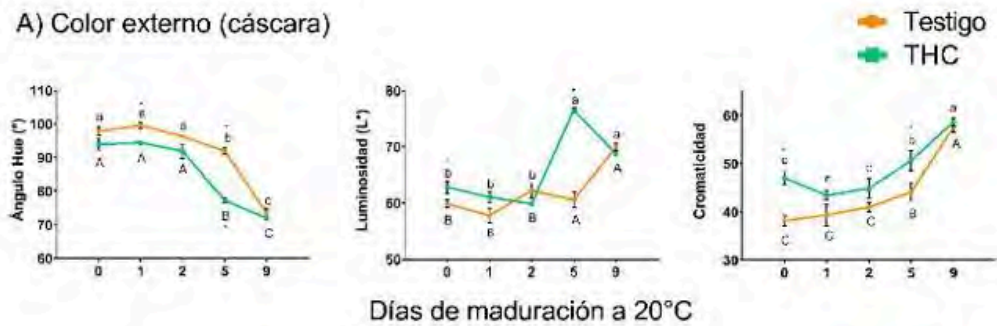
La pérdida de firmeza es consistente con hallazgos previos (Luna-Esquivel *et al.*, 2006); sin embargo, Dautt-Castro *et al.* (2018) reportaron diferencias en la pérdida de firmeza en los frutos tratados (THC) respecto al testigo, donde la firmeza de los frutos THC disminuyó dos días antes que la disminución en los testigos.

Posiblemente estas diferencias respecto a nuestros resultados se deban a que en este estudio los mangos con THC se sumergieron en agua caliente en las condiciones propuestas por el departamento de agricultura (USDA) de Estados Unidos de América en un entorno de laboratorio controlado. Por el contrario, los resultados reportados anteriormente provienen de THC en paquetes comerciales, posiblemente con menos control en las condiciones del tratamiento.

El color de la cáscara y la pulpa son parámetros de calidad esenciales para los consumidores y productores. Los valores de °Hue, L* y cromaticidad que se midieron se ilustran en las Figuras 3A (color externo) y 3B (color interno).

Figura 3. A) y B) efecto del THC en parámetros de color externo e interno (ángulo Hue, luminosidad, cromaticidad) de fruto de mango durante su maduración a 20°C. Los datos representan la media de tres replicas biológicas ± el error estándar. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los días de maduración postcosecha en los mangos testigo. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los días de maduración postcosecha en los mangos tratados. Diferencias significativas entre mangos testigo y mangos tratados de cada día están indicadas con asterisco. Prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). C) apariencia visual del fruto de mango durante su maduración a 20 °C.

A) Color externo (cáscara)



B) Color interno (pulpa)



C) Cambios de color



En general, la cáscara y la pulpa de mangos tratados y testigo cambiaron de verde oscuro a verde claro y finalmente a un tono amarillo más claro e intenso durante el almacenamiento postcosecha. El THC afectó todos los parámetros de color en la cáscara ($p \leq 0.05$) en el día 5 de almacenamiento, es decir en el climaterio. Respecto a la cromaticidad, los mangos con THC mostraron valores más altos que el grupo testigo lo que indica una intensidad más vigorosa del color ($p \leq 0.05$).

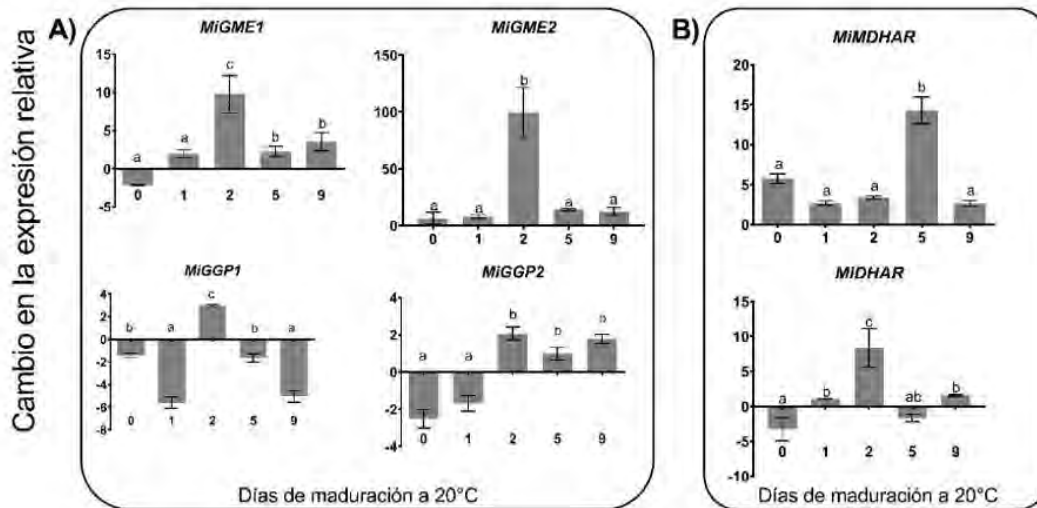
En cuanto al color interno (Figura 3B), solo se observó efecto del THC ($p < 0.05$) en el parámetro cromaticidad. Los frutos de mango cambiaron de un color amarillo brillante e intenso a un tono naranja más oscuro y tenue a través del almacenamiento postcosecha para ambos grupos.

El color de la cáscara de la fruta de mango se desarrolló más rápido en los frutos con THC (Figura 3C), consistente con trabajos previos en mango 'Ataulfo' sometido a THC (Luna-Esquivel *et al.*, 2006; Dautt-Castro *et al.*, 2018) y mango 'Keitt' (Ibarra-Garza *et al.*, 2015). Durante la maduración ocurren una serie de reacciones, entre ellas la degradación de la clorofila, fenómeno que se acelera cuando los frutos se someten a THC por la inhibición de la fotosíntesis (Wang *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018). También se sintetizan carotenoides que son responsables del color amarillo-naranja característico del mango 'Ataulfo' (Contreras-Vergara *et al.*, 2022).

Cambios de expresión en genes de la ruta de síntesis y reciclaje de L-AA y efectos del THC

La Figura 4 muestra el efecto del THC en la expresión relativa de los ARNm MiGME1, MiGME2, MiGGP1, MiGGP2 de la ruta de síntesis de L-AA y de MiMDHAR y MiMDHAR, de la ruta del reciclaje de L-AA, en los frutos de mango durante su maduración postcosecha. En la mayoría de los genes el THC estimuló los niveles de los ARNm, especialmente en los frutos al día 2 (Figura 4A y 4B). El ARNm MiGME1 se mantuvo estimulado durante su maduración poscosecha, similar al contenido de L-AA que se mantuvo constante.

Figura 4. Efecto del THC en la abundancia de transcritos del metabolismo del ácido L-ascórbico de fruto de mango durante su maduración postcosecha a 20°C. A) transcritos de la biosíntesis del ácido L-ascórbico: MiGME1, MiGME2, MiGGP1 y MiGGP2. B) transcritos del reciclaje del ácido L-ascórbico: MiMDHAR y MiDHAR. Los datos representan la media de tres replicas biológicas \pm el error estándar. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los días de maduración postcosecha. Prueba de Tukey ($p < 0.05$).



El ARNm MiGME2 fue estimulado desde el día 0 (inmediatamente después de aplicado el THC) mostrando el mayor incremento en los frutos al día 5 (100 veces más respecto a los frutos testigo), indicando una aparente mayor sensibilidad al calor. El ARNm MiGGP1 solo fue inducido en frutos al día 2, mientras que MiGGP2 fue inducido en frutos durante los días 2, 5 y 9.

Resultados similares fueron reportados por Li *et al.* (2013) en hojas de kiwi sometidas a estrés por calor (42 °C), las cuales mostraron represión de ARNm GGP a las 12 y 24 h después de la

exposición; sin embargo, a las 48 h se observó un incremento en la expresión. En la planta del té (*Camellia sinensis*), ambos GME y GGP se inducen durante estrés por calor (Li *et al.*, 2016), aunque con diferentes respuestas durante las primeras horas después del tratamiento.

Como se mostró en la Figura 1 el contenido de L-AA disminuyó por efecto del THC; sin embargo, en frutos al día 2, 5 y 9 la concentración de L-AA fue similar a la de los frutos al día 0 ($p < 0.05$), lo cual se puede relacionar con el incremento en expresión de genes de síntesis de L-AA (Figura 4A). Como se mencionó anteriormente, la biosíntesis de L-AA está finamente regulada, interviniendo también factores de transcripción sensibles al estrés y reguladores de genes relacionados con L-AA, como el factor de respuesta a etileno 98 (ERF98), regulador de ácido ascórbico 1 (AMR1) y HD-ZIP1 (Bulley y Laing, 2016; Mellidou y Kanellis, 2017).

En cuanto a la expresión de genes de la ruta de reciclaje, el ARNm MiMDHAR incrementó en los frutos al día 0, 1, 2, 5 y 9 (Figura 4B). Los niveles más altos se observan en frutos al día 5 (climaterio), con un aumento de 15 veces debido al THC. Mientras que el ARNm MiDHAR incrementó en frutos al día 1, 2 y 9. Sus niveles de expresión más altos fueron de ocho veces en frutos al día 2. El desarrollo de los ARNm de la ruta del reciclaje debido al THC, sugiere que se logra conservar una cantidad constante de L-AA para contrarrestar el estrés al que se somete el fruto por calor sumado al estrés que conlleva la maduración *per se*.

En acerola hubo una correlación positiva entre los cambios en la expresión génica de MDHAR y DHAR y sus actividades enzimáticas bajo condiciones de estrés y maduración (Etelib *et al.*, 2011). La importancia de las enzimas MDHAR y DHAR reside en su capacidad para reciclar sus respectivas formas oxidadas de L-AA (DHA y MDHA), evitando una mayor oxidación irreversible en ácido 2,3-dicetogulónico (Paciolla *et al.*, 2019).

Bajo este contexto, MDHAR y DHAR podrían ser los primeros en responder en el mantenimiento de la homeostasis de L-AA durante las condiciones de estrés abiótico. Probablemente, el THC podría haber inclinado la balanza hacia una acumulación mayor de especies reactivas de oxígeno (ERO), resultando en una reducción del contenido total de L-AA y la estimulación de genes relacionados tanto de la biosíntesis como el reciclaje del L-AA. Es esta investigación el enfoque fue hacia los niveles de expresión de genes, en un futuro se podrá determinar la actividad de enzimas del metabolismo del L-AA en frutos de mango.

Conclusiones

El THC ocasionó una reducción del L-AA en los mangos tratados, indicando un efecto por el calor o proceso oxidativo activo, por lo que trabajos posteriores podrían centrarse en el estrés oxidativo. Esta reducción no alteró la calidad nutricional general del fruto. Asimismo, el THC afectó parámetros como color externo indicando una maduración adelantada, sin dañar la calidad del fruto que mostró una intensidad más vigorosa del color. Los cambios en los niveles de expresión de los genes relacionados con el metabolismo del L-AA son evidentes.

En general, el THC estimuló los ARNm MiGME1, MiGME2, MiGGP2 y MiMDHAR especialmente después del día 2 de maduración postcosecha. Por lo que estos genes se consideran más sensibles al calor, convirtiéndolos en candidatos potenciales para futuras investigaciones. Por lo tanto, es posible proponer que la regulación en respuesta al THC ocurre a nivel transcripcional en el tejido de la fruta del mango debido al estrés abiótico otorgado por el tratamiento térmico y al proceso de maduración durante el almacenamiento postcosecha. Este trabajo puede servir de base en el panorama actual de la investigación de cultivos hortícolas para desarrollar cultivos ricos en L-AA tolerantes al estrés en respuesta a los desafíos planteados por el cambio climático.

Agradecimientos

Armida A. Gil Salido y Ana Paulina Sortillón Sortillón agradecen la beca para estudios de Doctorado en Ciencias y Maestría en Ciencias, respectivamente, otorgada por CONAHCYT.

Bibliografía

- 1 Bulley, S. and Laing, W. 2016. The regulation of ascorbate biosynthesis. *Curr. Opin. Plant Biol.* 33(1):15-22. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.04.010>.
- 2 Cárdenas-Coronel, W. G.; Velez-De La Rocha, R.; Siller-Cepeda, J. H.; Osuna-Enciso, T.; Muy-Rangel, M. D. and Sañudo-Barajas, J. A. 2012. Changes in the composition of starch, pectins and hemicelluloses during the ripening stage of mango (*Mangifera indica* cv. Kent). *Rev. Chapingo, Ser. Hortic.* 18(1):5-19.
- 3 Castillo-Velarde, E. R. 2019. Vitamina C en la salud y en la enfermedad. *Revista de la Facultad de Medicina Humana.* 19(4):95-100. [Doi.org/10.25176/rfmh.v19i4.2351](https://doi.org/10.25176/rfmh.v19i4.2351).
- 4 Chiaiese, P.; Corrado, G.; Minutolo, M.; Barone, A. and Errico, A. 2019. Transcriptional regulation of ascorbic acid during fruit ripening in pepper (*Capsicum annuum*) varieties with low and high antioxidants content. *Plants.* 8(7):1-12. [Doi.org/10.3390/plants8070206](https://doi.org/10.3390/plants8070206).
- 5 Contreras-Vergara, C.; Gil-Salido, A.; Sañudo-Barajas, A.; Osuna-Enciso, T. e Islas-Osuna, M. 2022. Bases bioquímicas y moleculares de la calidad postcosecha de frutos de mango (*Mangifera indica* L.). *In: tecnología, ingeniería y biotecnología de alimentos de origen vegetal: aprovechamiento de sus subproductos.* Ed. Distribuidora Académica Libertad Mexicana. 344-349 pp.
- 6 Dautt-Castro, M.; Ochoa-Leyva, A.; Contreras-Vergara, C. A.; Muhlia-Almazán, A.; Rivera-Domínguez, M.; Casas-Flores, S.; Martínez-Téllez, M. A.; Sañudo-Barajas, A.; Osuna-Enciso, T.; Báez-Sañudo, M. A.; Quiroz-Figueroa, F. R.; Kuhn, D. N. and Islas-Osuna, M. A. 2018. Mesocarp RNA-Seq analysis of mango (*Mangifera indica* L.) identify quarantine postharvest treatment effects on gene expression. *Sci. Hortic. (Amsterdam).* 227(1):146-153. [10.1016/j.scienta.2017.09.031](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.09.031).
- 7 Djioua, T.; Charles, F.; Lopez-Lauri, F.; Filgueiras, H.; Coudret, A.; Freire, Jr. M.; Ducamp-Collin, M. N. and Sallanon, H. 2009. Improving the storage of minimally processed mangoes (*Mangifera indica* L.) by hot water treatments. *Postharvest Biol. Technol.* 52(2):221-226. [10.1016/j.postharvbio.2008.10.006](https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.10.006).
- 8 Doner, L. W. and Hicks, K. B. 1981. High performance liquid chromatographic separation of ascorbic acid, erythorbic acid, dehydroascorbic acid, dehydroerythorbic acid, diketogulonic acid, and diketogluconic acid. *Anal. Biochem.* 115(1):225-230. [10.1016/0003-2697\(81\)90550-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(81)90550-9).
- 9 Dowdle, J.; Takahiro, I.; Stephan, G.; Susanne, R. and Nicholas, S. 2007. Two genes in arabidopsis thaliana encoding GDP-L-galactose phosphorylase are required for ascorbate biosynthesis and seedling viability. *Plant journal.* 52(4):673-89. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113X.2007.03266.x>.
- 10 Eltelib, H. A.; Badejo, A. A.; Fujikawa, Y. and Esaka, M. 2011. Gene expression of monodehydroascorbate reductase and dehydroascorbate reductase during fruit ripening and in response to environmental stresses in acerola (*Malpighia glabra*). *J. Plant Physiol.* 168(6):619-627. [10.1016/j.jplph.2010.09.003](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.09.003).
- 11 Fenech, M.; Amaya, I.; Valpuesta, V. and Botella, M. A. 2019. Vitamin C content in fruits: biosynthesis and regulation. *Frontiers in Plant Science.* 9(1):1-21. [10.3389/fpls.2018.02006](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.02006).
- 12 Galli, V.; Messias, R. S.; Guzman, F.; Perin, E. C.; Margis, R. and Rombaldi, C. V. 2019. Transcriptome analysis of strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruits under osmotic stresses and identification of genes related to ascorbic acid pathway. *Physiol. Plant.* 166(4):979-995. [10.1111/ppl.12861](https://doi.org/10.1111/ppl.12861).
- 13 Hernández, E.; Rivera, P.; Bravo, B.; Toledo, J.; Caro-Corrales, J. and Montoya, P. 2012. Hot-water phytosanitary treatment against *Ceratitits capitata* (Diptera: tephritidae) in 'Ataulfo' mangoes. *J. Econ. Entomol.* 105(6):1940-1953. [10.1603/EC.11239](https://doi.org/10.1603/EC.11239).

- 14 Ibarra-Garza, I. P.; Ramos-Parra P. A.; Hernández-Brenes, C. and Jacobo-Velázquez, D. A. 2015. Effects of postharvest ripening on the nutraceutical and physicochemical properties of mango (*Mangifera indica* L. cv. Keitt). *Postharvest biology and technology*. 103(1):45-54. [10.1016/j.postharvbio.2015.02.014](https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.02.014).
- 15 Javed, S.; Fu, H.; Ali, A.; Nadeem, A.; Amim, M.; Razzaq, K.; Ullah, S.; Rajwana, I.; Nayab, S.; Ziogas, V.; Liu, P. and Hussain, S. B. 2022. Comparative response of mango fruit towards pre and post storage quarantine heat treatments. *Agronomy*. 12(6):1476. [10.3390/agronomy12061476](https://doi.org/10.3390/agronomy12061476).
- 16 Jiang, M.; Liu, Y.; Ren, L.; She, X. and Chen, H. 2018. Light regulates ascorbic acid accumulation and ascorbic acid related genes expression in the peel of eggplant. *South African J. Bot.* 114(1):20-28. [10.1016/j.sajb.2017.10.012](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.10.012).
- 17 Konica Minolta. 2007. Precise color communication, color control from perception to instrumentation. Konica Minolta Sensing Inc., Japan. 12-18 pp.
- 18 Li, H.; Huang, W.; Wang, G. L.; Wu, Z. J. and Zhuang, J. 2016. Expression profile analysis of ascorbic acid related genes in response to temperature stress in the tea plant, *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze. *Genet. Mol. Res.* 15(1):1-10. [10.4238/gmr.15048756](https://doi.org/10.4238/gmr.15048756).
- 19 Li, J.; Liang, D.; Li, M. and Ma, F. 2013. Light and abiotic stresses regulate the expression of GDP-I galactose phosphorylase and levels of ascorbic acid in two kiwifruit genotypes via light responsive and stress inducible cis elements in their promoters. *Planta*. 238(1):535-547. [10.1007/s00425-013-1915-z](https://doi.org/10.1007/s00425-013-1915-z).
- 20 Liu, X.; Wu, R.; Bulley, S. M.; Zhong, C. and Li, D. 2022. Kiwifruit MYBS1#like and GBF3 transcription factors influence l-ascorbic acid biosynthesis by activating transcription of GDP#L#galactose Phosphorylase 3. *New phytologist*. 234(5):1782-1800. [10.1111/nph.18097](https://doi.org/10.1111/nph.18097).
- 21 López-Gómez, R. and Gómez-Lim, M. A. 2019. A method for extracting intact rna from fruits rich in polysaccharides using ripe mango mesocarp. *HortScience*. 27(5):440-442. [10.21273/hortsci.27.5.440](https://doi.org/10.21273/hortsci.27.5.440).
- 22 Luna-Esquivel, G.; Arévalo-Galarza, M.; Anaya-Rosales, S.; Villegas-Monter, A.; Acosta-Ramos, M. y Leyva-Ruelas, G. 2006. Calidad de mango 'Ataulfo' sometido a tratamiento hidrotérmico. *Rev. Fitotec. Mex.* 29(Esp2):123-128.
- 23 Macknight, R. C.; Laing, W. A.; Bulley, S. M.; Broad, R. C.; Johnson, A. A. and Hellens, R. P. 2017. Increasing ascorbate levels in crops to enhance human nutrition and plant abiotic stress tolerance. *Curr. Opin. Biotechnol.* 44(1):153-160. [10.1016/j.copbio.2017.01.011](https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.01.011).
- 24 Manthey, J. A. and Perkins-Veazie, P. 2009. Influences of harvest date and location on the levels of #-carotene, ascorbic acid, total phenols, the *in vitro* antioxidant capacity, and phenolic profiles of five commercial varieties of mango (*Mangifera indica* L.). *J. Agric. Food Chem.* 57(22):10825-10830. [10.1021/jf902606h](https://doi.org/10.1021/jf902606h).
- 25 Mditshwa, A.; Magwaza, L. S.; Tesfay, S. Z. and Opara, U. L. 2017. Postharvest factors affecting vitamin C content of citrus fruits: a review. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 218(1):95-104. [10.1016/j.scienta.2017.02.024](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.02.024).
- 26 Mellidou, I. and Kanellis, A. K. 2017. Genetic control of ascorbic acid biosynthesis and recycling in horticultural crops. *Front. Chem.* 5(1):1-8. [10.3389/fchem.2017.00050](https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00050).
- 27 Mellidou, I.; Keulemans, J.; Kanellis, A. K. and Davey, M. W. 2012. Regulation of fruit ascorbic acid concentrations during ripening in high and low vitamin C tomato cultivars. *BMC Plant Biol.* 12(1):1-19. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12239>.
- 28 Paciolla, C.; Fortunato, S.; Dipierro, N.; Paradiso, A.; De Leonardis, S.; Mastropasqua, L. and De Pinto, M. C. 2019. Vitamin C in plants: from functions to biofortification. *Antioxidants*. 8(11):519. <https://doi.org/10.3390/antiox8110519>.

- 29 Robles-Sánchez, R. M.; Rojas-Graü, M. A.; Odriozola-Serrano, I.; González-Aguilar, G. A. and Martín-Belloso, O. 2009. Effect of minimal processing on bioactive compounds and antioxidant activity of fresh cut 'Kent' mango (*Mangifera indica* L.). *Postharvest Biol. Technol.* 51(3):384-390. 10.1016/j.postharvbio.2008.09.003.
- 30 Schmittgen, T. D. and Livak, K. J. 2008. Analyzing real time PCR data by the comparative CT method. *Nat. Protoc.* 3(6):1101-1108. 10.1038/nprot.2008.73.
- 31 Siller-Cepeda, J.; Muy-Rangel, D.; Baéz-Sañudo, M.; Araiza-Lizarde, E. and Ireta-Ojeda, A. 2009. Postharvest quality of mango cultivars of early, middle, and late seasons. *Rev. Fitotec. Mex.* 32(1):45-52. 10.35196/rfm.2009.1.45-52.
- 32 Smirnof, N. 2018. Ascorbic acid metabolism and functions: a comparison of plants and mammals. *Free radical biology and medicine.* 122(1):116-29. 10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.033.
- 33 Tao, J.; Wu, H.; Li, Z.; Huang, C. and Xu, X. 2018. Molecular evolution of GDP-D mannose epimerase (GME), a key gene in plant ascorbic acid biosynthesis. *Frontiers in Plant Science* 9(1):1293. 10.3389/fpls.2018.01293.
- 34 USDA, 2017. Unites States Department of Agriculture. Animal and Plant Health Inspection Service. Plant protection and quarantine. Treatment manual. <https://www.aphis.usda.gov/aphis/planthealth/complete-list-of-electronic-manuals>.
- 35 Wang, P.; Wang, F. and Yang, J. 2017. De novo assembly and analysis of the *Pugionium cornutum* (L.) Gaertn. Transcriptome and identification of genes involved in the drought response. *Gene.* 626(1):290-297. 10.1016/j.gene.2017.05.053.
- 36 Wang, Q. L.; Chen, J. H.; He, N. Y. and Guo, F. Q. 2018. Metabolic reprogramming in chloroplasts under heat stress in plants. *Int. J. Mol. Sci.* 19(3):849. 10.3390/ijms19030849.
- 37 Wheeler, G. L.; Jones, M. A. and Smirnof, N. 1998. The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. *Nature.* 393(6683):365-369. 10.1038/30728.
- 38 Zhang, C.; Huang, J. and Li, X. 2016. Transcriptomic analysis reveals the metabolic mechanism of l ascorbic acid in *Ziziphus jujuba* mill. *Front. Plant Sci.* 7(1):122. 10.3389/fpls.2016.00122.
- 39 Zhang, J. Y.; Pan, D. L.; Jia, Z. H.; Wang, T.; Wang, G. and Guo, Z. R. 2018. Chlorophyll, carotenoid and vitamin C metabolism regulation in actinidic chinensis 'hongyang' outer pericarp during fruit development. *PloS One.* 13(3):1-17. 10.1371/journal.pone.0194835.



El tratamiento hidrotérmico afecta el contenido de ácido ascórbico y otros parámetros de calidad en mango 'Ataulfo'

Journal Information
Journal ID (publisher-id): remexca
Title: Revista mexicana de ciencias agrícolas
Abbreviated Title: Rev. Mex. Cienc. Agríc
ISSN (print): 2007-0934
Publisher: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Article/Issue Information
Date received: 01 February 2024
Date accepted: 01 May 2024
Publication date: 09 May 2024
Publication date: Apr-May 2024
Volume: 15
Issue: 3
Electronic Location Identifier: e3672
DOI: 10.29312/remexca.v15i3.3672

Categories

Subject: Artículo

Palabras clave:

Palabras clave:

Mangifera indica
estrés por calor
expresión de genes
maduración

Counts

Figures: 4
Tables: 1
Equations: 0
References: 39
Pages: 0