
CAMBIOS EN ENZIMAS PECTOLÍTICAS DURANTE LA MADURACIÓN DEL DURAZNO 'FLORDAPRINCE'

Armida Rodríguez-Félix, Judith Fortiz-Hernández y Mónica A. Villegas-Ochoa

RESUMEN

El durazno 'Flordaprince' se ablanda rápidamente durante el mercadeo. Se evaluaron los cambios físicos y químicos y la actividad poligalacturonasa (PG) y pectinmetilesterasa (PME) durante la maduración en el árbol del durazno 'Flordaprince'. Se cosecharon frutos en diferentes estados de madurez (EM) y se clasificaron en cinco EM en base al color de la epidermis (ángulo de tono): I (98°), II (86,2°), III (70,8°), IV (52,4°) y V

(33,3°). Se analizaron las variables color de la epidermis, sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT), firmeza, actividad PME y actividad específica PG. Los valores de SST y relación SST/AT aumentaron con la maduración de los frutos; mientras que la AT y la firmeza disminuyeron. La actividad PME disminuyó y la actividad PG aumentó durante la maduración del fruto, coincidiendo con la disminución de la firmeza.

CHANGES IN PECTOLITIC ENZYMES DURING RIPENING OF 'FLORDAPRINCE' PEACH FRUIT

Armida Rodríguez-Félix, Judith Fortiz-Hernández and Mónica A. Villegas-Ochoa

SUMMARY

'Flordaprince' peach softens rapidly during marketing. Changes in physico-chemical properties, firmness, and polygalacturonase and pectin methylesterase activities of 'Flordaprince' peaches were evaluated during on-tree ripening. Fruits were harvested and classified in five different maturity stages, based on skin hue angle: I (98°), II (86.2°), III (70.8°), IV (52.4°),

and V (33.3°). Skin color (hue, saturation, and lightness), total soluble solids, titratable acidity, firmness (cheeks and blossom end), and PG and PME activities were evaluated. It was found that TSS, TSS/TA ratio increased during ripening, whereas TA and firmness decreased. PME activity decreased and PG activity increased during peach ripening, coinciding with firmness loss.

Introducción

El durazno es una fruta climática, por lo que los cambios en color, firmeza, sabor, producción de etileno, y otros, continúan después de ser cosechado (Brummell *et al.*, 2004). La velocidad de ablandamiento de los frutos es el principal factor que determina su deterioro postcosecha e influye en su vida de anaquel, en infecciones postcosecha por patógenos, y limita el transporte y almacenamiento de los frutos (Brummel y Harpster, 2001). Por ello, el durazno se cosecha antes de alcanzar su madurez completa, para mantener los

frutos firmes, reducir daños durante el manejo y prolongar su vida de anaquel (Sherman *et al.*, 1990).

Los duraznos son clasificados en base a su firmeza en frutos de pulpa blanda y frutos de pulpa no blanda. Los cultivares de pulpa blanda se distinguen de los cultivares de pulpa no blanda por el gran ablandamiento de su pulpa que ocurre en la etapa final de la maduración (Brovelli *et al.*, 1998; Morgutti *et al.*, 2006). Los duraznos de pulpa no blanda no presentan una rápida disminución de firmeza, así que estos frutos se mantienen relativamente firmes aún cuando

están completamente maduros (Pressey y Avants, 1978). Sin embargo, aún en los cultivares de pulpa blanda hay diferencias en las características del proceso de maduración (Manganaris *et al.*, 2008).

En durazno, el ablandamiento se inicia temprano en la maduración del fruto, y parece involucrar la acción de varias enzimas, tales como poligalacturonasa (PG), pectinmetilesterasa (PME), endo-1,4- β -glucanasa, α -arabinosidasa y β -galactosidasa, las cuales muestran cambios en su actividad y se asocian con una variedad de modificaciones en la pared celular, responsables de los

cambios en firmeza antes y durante la fase de ablandamiento rápido (Brummell *et al.*, 2004). Lester *et al.* (1994) atribuyeron el ablandamiento de durazno 'Flavorcrest', variedad de hueso despegado, a una endo-poligalacturonasa que incrementa su expresión después del aumento climático en la producción de etileno. Endo-PG (EC 3.2.1.15) cataliza al azar la hidrólisis de enlaces internos de α -1,4-D-galacturonano no esterificado, mientras que exo-PG (EC 3.2.1.67) libera unidades sencillas de ácido galacturónico del extremo no reductor de la molécula de ácido poligalacturónico. El

PALABRAS CLAVE / Color / Firmeza / Pectinmetilesterasa / Poligalacturonasa / *Prunus persica* /

Recibido: 21/01/2010. Modificado: 13/12/2010. Aceptado: 17/12/2010.

Armida Rodríguez-Félix. Maestra en Ciencias, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD), México. Dirección: CIAD A.C., Apdo. Postal 1735. Hermosillo, Sonora, México

83000. e-mail: armida@ciad.mx

Judith Fortiz-Hernández. Maestra en Ciencias, Colegio de Postgraduados, México. Investigadora, CIAD A.C. México. e-mail: jfortiz@ciad.mx

Mónica Alejandra Villegas-Ochoa. Química, Universidad de Sonora, México. Técnico, CIAD A.C. e-mail: mvillegas@ciad.mx

RESUMO

O pessego 'Flordaprince' se amolece rapidamente durante o mercado. Se avaliaram as mudanças físicas e químicas e a atividade poligalacturonase (PG) e pectinmetilesterase (PME) durante o amadurecimento do pessego 'Flordaprince' na árvore. Foram colhidos frutos em diferentes estágios de maturação (EM) e se classificaram em cinco EM em base a cor da epiderme (ângulo de tom): I (98°), II (86,2°), III (70,8°), IV (52,4°) e

V (33,3°). Analisaram-se as variáveis cor da epiderme, sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável (AT), firmeza, atividade PME e atividade específica PG. Os valores de SST e relação SST/AT aumentaram com o amadurecimento dos frutos; enquanto que a AT e a firmeza diminuíram. A atividade PME diminuiu e a atividade PG aumentou durante o amadurecimento da fruta, coincidindo com a diminuição da firmeza.

sustrato de PG en la pared celular es principalmente homogalacturonano, el cual se secreta a la pared celular en una forma altamente metil-esterificada y debe de ser desesterificado antes de que pueda ser sustrato de PG. La desesterificación es realizada por pectinmetilesterasa (PME; EC 3.1.1.11) la cual desesterifica los poliuronidos (Brummell y Harpster, 2001). La actividad de exo-PG durante la maduración ha sido observada tanto en variedades de durazno de hueso pegado como despegado, pero sólo hay actividad de la enzima endo-PG durante la maduración de variedades de hueso despegado, coincidiendo con la fase rápida de ablandamiento (Orr y Brady, 1993).

El durazno (*Prunus persica* L. Batsch) 'Flordaprince' es considerado un cultivar de hueso semidespegado y de maduración temprana. Los frutos maduran 80-85 días después de la floración, y son de apariencia atractiva debido a que el 80% de su superficie externa está cubierta de rayas de color rojo cuando el fruto está maduro (Sherman *et al.*, 1982).

Los cambios fisiológicos, físicos y químicos, y las características sensoriales de durazno 'Flordaprince' durante la maduración de este fruto han sido previamente estudiadas (Rodríguez-Félix *et al.*, 1996a, b). Sin embargo, se desconocen los cambios en la actividad PME y PG durante la maduración de los frutos de este cultivar. El objetivo de este trabajo, fue evaluar los cambios físicos y químicos, y la

actividad poligalacturonasa (PG) y pectinmetilesterasa (PME), durante la maduración en el árbol de durazno 'Flordaprince'.

Materiales y Métodos

Material vegetal

Se utilizó durazno 'Flordaprince' de una huerta comercial localizada en Carbó, Sonora, México (29°40'58"N y 110°57'24"W). Los frutos de diferentes estados de madurez se cosecharon manualmente el mismo día, se colocaron en cajas de cartón y se transportaron al laboratorio. Posteriormente se seleccionaron frutos en base a uniformidad de tamaño y ausencia de defectos, y se clasificaron en cinco estados de madurez en base al color (ángulo de tono) de la epidermis: I (98°), II (86,2°), III (70,8°), IV (52,4°) y V (33,3°). En estos frutos se realizaron los análisis de color (L, ángulo de tono y croma) y de firmeza. Los sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT), actividad pectinmetilesterasa, actividad poligalacturonasa y contenido de proteínas totales se analizaron por triplicado en tres sublotos de diez frutos, los cuales fueron cortados en piezas pequeñas, colocados en bolsas de polietileno y almacenados a -40°C.

Color

Esta variable se evaluó con un colorímetro MiniScan Hunter Lab modelo MS/B-2500 L, en su modo reflectancia, previamente calibrado. Se utiliza-

ron 30 frutos por estado de madurez, a los cuales se les midió color en la epidermis en dos puntos opuestos de la zona ecuatorial. Se tomaron las lecturas de los valores de L*, a* y b* y se promediaron las dos lecturas de cada fruto. Los resultados se expresaron (McGuire, 1992) como claridad (L), ángulo de tono (Θ = arco-tangente b/a) y croma ($(a^2 + b^2)^{1/2}$).

Firmeza

Para esta evaluación se utilizó un penetrómetro Chatillón (DFG-50), provisto de un punzón de 8mm de diámetro. La firmeza se determinó en 30 frutos por estado de madurez. Para cada fruto la firmeza se midió en la región ecuatorial, en dos lados opuestos, y en el extremo floral o ápice, después de eliminar la piel. Se calculó el promedio de las dos lecturas de la zona ecuatorial del fruto (Bourne, 1980). Los resultados de firmeza en lados y en ápice se expresaron en Newtons.

Sólidos solubles totales y acidez titulable

Estos análisis se realizaron por triplicado de acuerdo a la metodología de AOAC (1990). Se utilizaron 10 frutos por repetición, por cada estado de madurez. Se preparó un extracto homogeneizando 10g de muestra con 60ml de agua destilada. Para la determinación de sólidos solubles totales (SST), se colocó una gota del extracto en un refractómetro Abbe (American Optical) cali-

brado previamente con agua. El resultado se expresó como el porcentaje de SST en la fruta. La acidez titulable se determinó en un titulador automático Mettler DL21, tomando alícuotas de 50ml del extracto y valorándose con una solución de NaOH 0,1N hasta lograr un pH final de 8,2. El resultado se expresó como el porcentaje de ácido málico presente en la fruta.

Actividad pectinmetilesterasa (PME)

Extracción de PME. El análisis se realizó por triplicado para cada estado de madurez, utilizándose 10 frutos por repetición. Para la extracción se homogeneizaron 5g de pulpa en 25ml de solución amortiguadora Tris-Cl 0,25M, con 0,3M de NaCl a pH 8; el homogeneizado se agitó durante 2h y se centrifugó a 4°C durante 25min a 16000 g (Wicker *et al.*, 1987), constituyendo el sobrenadante el extracto crudo.

Determinación de la actividad PME. La actividad PME se determinó midiendo la velocidad de demetilación de pectina por valoración con NaOH según el método de Rouse y Atkins (1955). Se utilizó como sustrato 25ml de pectina comercial de cítricos (Sigma) al 1% (p/v) en NaCl 0,1M a pH 7. El pH se ajustó a 7,0 con NaOH 0,025N o HCl 0,02N antes de la adición de 2ml del extracto enzimático. La mezcla se valoró con NaOH 0,025N hasta alcanzar un pH de 7, representando la cantidad de NaOH necesario para neutrali-

zar los grupos carboxilos liberados y mantener el pH. La temperatura de análisis (30°C) fue controlada en un baño de agua con circulación. La solución de pectina, el NaOH y la mezcla de ensayo se mantuvieron a la temperatura mencionada durante al menos 10min antes de la adición del extracto enzimático. Los resultados se expresaron como unidades de actividad pectinmetilesterasa. Una unidad de actividad se definió como la cantidad de enzima capaz de catalizar el consumo de 1 µequivalentes de éster hidrolizado por minuto y por ml de extracto.

Actividad poligalacturonasa (PG)

Extracción de PG. Ésta se efectuó de acuerdo a Gross (1982), con modificaciones. El análisis se realizó por triplicado, utilizando 10 frutos por repetición. Para preparar el extracto se homogeneizaron 100g de pulpa con 300ml de bisulfito de sodio 1% (p/v) a pH 6. El homogeneizado se filtró y se resuspendió en 300ml de bisulfito de sodio 1%, se filtró de nuevo, y el residuo se resuspendió en 150ml de NaCl 1M, ajustando el pH a 6,0 con NaOH 1N. Esta mezcla se agitó durante 3h a una temperatura inferior a 4°C, se filtró y se centrifugó a 9000g durante 15min. Se tomó una alícuota de 2,5ml del sobrenadante, la cual se desaló en una columna Sephadex G-25 (volumen de 10ml), equilibrada con tampón acetato de sodio 50mM (pH 4,4). El extracto desalado se congeló a -40°C para el posterior análisis de actividad PG y cuantificación de proteína total.

Determinación de la actividad PG. El ensayo se basó en la liberación hidrolítica de grupos reductores a partir de ácido poligalacturónico. Se utilizaron 25 a 50µl del extracto enzimático desalado, al cual se le agregó tampón acetato de sodio 37,5mM (pH 4,4) y ácido poligalacturónico al 0,2% (p/v), el cual fue lavado con etanol al 80% antes de su uso.

Esta mezcla (0,2ml de volumen total), se agitó a 30°C durante 3h en un agitador de alícuotas. Para cuantificar los grupos reductores liberados, la reacción se detuvo agregando 1ml tampón borato 100mM (pH 9) frío, seguido de 0,2ml de 2-cianoacetamida al 1% (p/v). Las muestras se mezclaron y se colocaron en un baño con agua hirviendo durante 10min. Después de enfriarse a temperatura ambiente (25°C), se leyó la absorbancia a 276nm en un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo Lambda 3A. Los resultados se expresaron como nmoles de grupos reductores producidos por mg de proteína por hora (Gross, 1982).

Proteínas totales. El contenido de proteína del extracto desalado se determinó colorimétricamente utilizando azul de Coomassie y albúmina sérica bovina como patrón. Los resultados se expresaron como mg de proteína/ml (Bradford, 1976).

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar donde los tratamientos fueron los estados de madurez I al V, según el valor de ángulo de tono en la epidermis. Se aplicó la prueba de Tukey (P<0,05) para determinar diferencias significativas entre las medias de los tratamientos. Los datos fueron analizados con el paquete estadístico computacional (SAS, 1986).

Resultados

Color

El ángulo de tono disminuyó significativamente al avanzar el estado de madurez de los frutos. Los duraznos cosechados en el estado de madurez I presentaron el mayor ángulo de tono (p<0,05) con un

valor de 98°. Este valor se ubica en el área que corresponde a un tono de color amarillo verdoso del diagrama de cromaticidad (Konica Minolta, 1998; Tabla I), lo cual indica que ya había un cambio del color verde característico de duraznos inmaduros y que la maduración ya se había iniciado, así como los cambios asociados a ella como lo son la degradación de la clorofila y la síntesis de carotenoides (Cascales *et al.*, 2005). Los frutos de los estados de madurez II y III presentaron valores de ángulo de tono de 86,2 y 70,8°, respectivamente, que en el diagrama de cromaticidad (Konica Minolta, 1998) corresponden a tonos de color amarillo y amarillo rojizo, respectivamente. Los frutos del EM IV y V mostraron el menor ángulo de tono (p<0,05) con valores de 52,4 y 33,3° respectivamente.

El croma tendió a aumentar al avanzar el estado de madurez de los frutos (Tabla I). Los duraznos del EM I, II y III presentaron menores valores de croma (P<0,05) que los frutos de los EM IV y V. Esto indica que los frutos en un estado de madurez más avanzado presentaron mayor saturación del color comparados con los frutos del EM I, II y

III presentaron los valores mayores y los del EM V los menores, lo que indica que los tonos del color de los frutos de los EM I y II son los más claros y los del EM V los más oscuros.

Los frutos estudiados que maduraron en el árbol presentaron el 80% de color rojo en su superficie externa lo cual coincide con lo publicado por Sherman *et al.* (1982).

Sólidos solubles totales y acidez titulable

Los sólidos solubles totales se incrementaron significativamente (P<0,05) al avanzar el estado de madurez de los frutos, observándose que los frutos de EM I al III presentaron un contenido de SST similar (P<0,05) con valores de 5,1 a 5,6, e inferior al de los frutos de los EM IV y V que mostraron valores de SST de 6,1 y 7,5, respectivamente (Tabla II).

El incremento en los SST durante la maduración de durazno 'Flordaprince', coincide con lo informado por Agozzino *et al.* (2007) y Cascales *et al.* (2005) en duraznos 'Fairtime' y 'Caterin', respectivamente. Los valores de SST de los duraznos del EM V son inferiores a los publicados por Rodríguez-Félix *et al.* (1996a),

Ortiz de Zárate *et al.* (2007) y Wert *et al.* (2009) quienes observaron valores de 9,1; 9,8 y 10-13°Brix. Wert *et al.* (2009) observaron valores superiores (13°Brix) en duraznos 'Flordaprince' cultivados en la región suroeste de Florida con respecto a los de la región centro-norte de Florida (10°Brix), atribuyendo estas diferencias a la mayor temperatura ambiental y fertilización de los huertos de la región suroeste. Crisosto *et al.* (1994) observaron que no existen diferencias en el contenido de SST de duraznos 'O' Henry' cultivados en condiciones de riego óptimas y en condiciones de exceso de riego. Sin embargo, informaron un incre-

TABLA I
COLOR (ÁNGULO DE TONO, CROMA Y CLARIDAD) DE DURAZNO 'FLORDAPRINCE' EN DIFERENTES ESTADOS DE MADUREZ*

| Estado de madurez | Ángulo de tono (°) | Croma | Claridad (L) |
|-------------------|--------------------|--------|--------------|
| I | 98,0 a | 28,0 b | 59,16 a |
| II | 86,2 b | 28,3 b | 60,18 a |
| III | 70,8 c | 27,9 b | 56,38 b |
| IV | 52,4 d | 31,5 a | 50,39 c |
| V | 33,3 e | 32,1 a | 40,50 d |

* Medias con letras diferentes en cada columna, indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (P≤0,05).

III que presentaron menor saturación del color (Konica Minolta, 1998).

Los valores de claridad en la epidermis de los frutos disminuyeron significativamente (p<0,05) al avanzar la maduración de los mismos mostrando que los frutos de los EM I y

mento en el contenido de SST en frutos bajo condiciones de déficit de riego.

La acidez titulable, reportada como porcentaje de ácido málico, disminuyó de 0,98% en frutos en el EM I a 0,61% en frutos en el EM V (Tabla II). En duraznos maduros los principales ácidos orgánicos son el málico y el cítrico; sin embargo, el sorbitol y el ácido quínico también se encuentran en bajas concentraciones (Moing *et al.*, 1998). La acidez titulable de los duraznos 'Flordaprince' maduros (EM V, 33,3° de ángulo de tono) de este estudio es superior a la informada por Rodríguez-Félix *et al.* (1996a), lo que puede atribuirse a las diferencias en las condiciones climáticas y/o de fertilización de las regiones de cultivo de ambos estudios, como lo señalan Wert *et al.* (2009).

La relación SST/AT mostró una tendencia a aumentar ($P < 0,05$) durante la maduración de los frutos con valores de 5,2 hasta una relación de 12,3 (Tabla II). Sin embargo, este valor es inferior al de 17,9 publicado por Rodríguez-Félix *et al.* (1996a), debido al menor contenido de SST y mayor AT de los frutos del presente estudio.

Firmeza

Los frutos del EM I presentaron la mayor firmeza en lados (59,1N). Ésta disminuyó significativamente al aumentar el estado de madurez hasta alcanzar valores de 21,7N en duraznos del EM V (Figura 1). Un comportamiento similar se observó en los valores de firmeza en el ápice o punta de los frutos de durazno los cuales en el EM I presentaron valores de 54,7N disminuyendo hasta alcanzar valores de

TABLA II
SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES Y ACIDEZ TITULABLE DE DURAZNO 'FLORDAPRINCE' EN DIFERENTES ESTADOS DE MADUREZ*

| Estado de madurez | SST | Acidez titulable (% ácido málico) | SST/AT |
|-------------------|--------|-----------------------------------|--------|
| I | 5,1 b | 0,98 a | 5,2 |
| II | 5,4 b | 0,79 ab | 6,8 |
| III | 5,6 b | 0,75 b | 7,5 |
| IV | 6,1 ab | 0,65 b | 9,4 |
| V | 7,5 a | 0,61 b | 12,3 |

* Medias con letras diferentes en cada columna, indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

3,6N en los frutos del EM V.

La firmeza es uno de los principales indicadores de maduración y un predictor de vida de anaquel. Diferentes autores han realizado diversas clasificaciones del durazno de acuerdo a su firmeza. Comparando la firmeza en lados de los frutos de este estudio se observa que de acuerdo a la clasificación de firmeza en 12 cultivares de durazno realizada por Byrne *et al.* (1991), los frutos cosechados en los EM I y II se encontraban en la etapa de madurez fisiológica, mientras que los frutos cosechados en los EM III y IV corresponden a la categoría maduro-firme, y finalmente los frutos cosechados en el EM V corresponden a la categoría maduro-blando. En cambio, de acuerdo a la clasificación de Brummell *et al.* (2004), los frutos de este es-

tudio cosechados en los EM I se encontraban en el inicio de maduración, los frutos del EM II estaban en madurez temprana, mientras que los del EM III y IV se ubicaban en la categoría de madurez intermedia, y finalmente los del EM V se considera que estaban completamente maduros. Estos autores mencionan que en la etapa de inicio de la maduración hay una producción de etileno detectable, mientras que en madurez intermedia hay un incremento de la producción de etileno y en la etapa completamente madura ocurre el pico climático.

Rodríguez-Félix *et al.* (1996a) evaluaron la producción de etileno de frutos de durazno 'Flordaprince' observando que los frutos clasificados en ese estudio como de los EM más avanzados (III y IV) presentaron a la cosecha producción detectable de etileno y durante el almacenamiento a 20°C mostraron el pico de producción de etileno a los 6 y 7 días, respectivamente. Estos autores mencionan que la disminución de firmeza durante el almacenamiento a 20°C de los frutos ocurrió más rápido que la aparición de los picos climáticos de etileno para todos los EM estudiados. Tonutti *et al.* (1997) también encontraron que el ablandamiento del durazno inicia significativamente antes que el incremento en la producción de etileno y sugirieron que el mismo pudiera ser independiente de la producción de etileno.

Los frutos del EM IV de este estudio se ubican en la categoría "listos para comprar", que de acuerdo a Crisosto y Mitchell (2002), co-

rresponde a frutos con valores de firmeza de 27 a 36N.

Los valores y el comportamiento de firmeza durante la maduración de los duraznos de este estudio son similares a los publicados por Rodríguez-Félix *et al.* (1996a) en durazno 'Flordaprince'. Así mismo, Cascales *et al.* (2005) observaron una disminución de 65 a 22N en la firmeza durante la maduración de durazno 'Caterin'.

Los frutos en el EM V que completaron su maduración en el árbol presentaron valores de firmeza mayores a 20N. Sin embargo, es deseable que los frutos posean valores de firmeza más altos, ya que son más resistentes para el transporte y la comercialización (Crisosto, 2002).

Al comparar los cambios en el ángulo de tono con los cambios en firmeza durante la maduración de durazno 'Flordaprince' se observa que ambas variables mostraron una tendencia similar a disminuir al avanzar la maduración de los frutos.

Actividad pectinmetilesterasa (PME)

Los frutos cosechados en EM I, en madurez fisiológica de acuerdo a Byrne *et al.* (1991), presentaron la mayor actividad PME (2,48 $\mu\text{eq}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ de éster), la que disminuyó significativamente al avanzar la madurez de los frutos, presentando valores de 0,87 $\mu\text{eq}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ en frutos del EM V (maduro-blandos), resultando en un 65% de pérdida de la actividad inicial de la enzima (Figura 2). Los valores de actividad PME observados en los duraznos 'Flordaprince' en estado maduro (EM V) son similares al valor de 1,0 $\mu\text{eq}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ de éster en durazno maduro de variedad de hueso despegado hallado por Javeri y Wicker (1991).

Un comportamiento similar en la disminución de actividad PME durante la maduración de durazno de hueso despegado ha sido publicado por Shewfelt (1965) y por

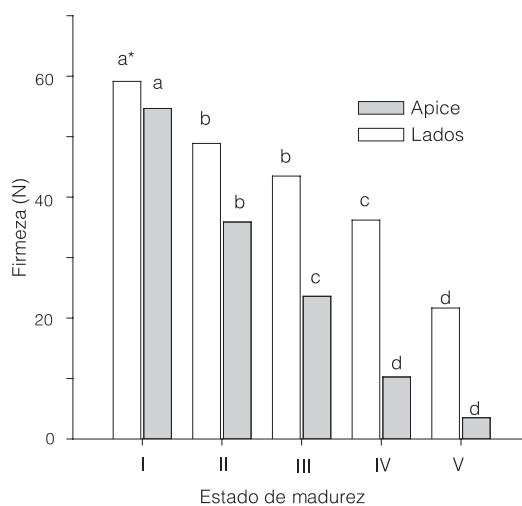


Figura 1. Firmeza en lados y ápice de durazno 'Flordaprince' cosechados en diferentes estados de madurez. *Medias con letras diferentes en lados y ápice, indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

Glover y Brady (1995). Sin embargo, Brummell *et al.* (2004) observaron un incremento en la actividad PME durante la maduración de durazno 'O'Henry', mientras que Porter *et al.* (2000) encontraron una alta variabilidad en actividad PME entre nueve variedades de pulpa blanda con bajos requerimientos de frío y de maduración temprana como 'Flordaprince'. Glover y Brady (1995) concluyeron que la actividad PME en fruta inmadura tiene una fuerte asociación con los polímeros pécticos y esto ha causado que su actividad sea subestimada en algunos estudios. Estos autores sugieren que esta asociación de PME con los polímeros pécticos *in vivo* puede regular la actividad de la enzima. Estas diferencias en el tipo y grado de la modificación de los polisacáridos de la pared celular y en la expresión y regulación de las enzimas que modifican la pared celular. Así mismo, estas diferencias pudieran atribuirse a las diferentes metodologías empleadas para medir la actividad PME utilizadas en cada experimento (Goulao y Oliveira, 2008).

La pectinmetilesterasa desesterifica los poliuronidos eliminando grupos metilo de la posición 6 de los residuos de ácido galacturónico de pectina de alto peso molecular. La demetilación de la pectina a sus grupos carboxilo libres cambia el pH y la carga en la pared celular, permitiendo la agregación de los poliuronidos en una estructura enlazada a Ca y hace los poliuronidos susceptibles a la degradación por PG (Brummell y Harpster, 2001). Debido a ello, estos autores sugieren que la función de PME es preparar las sustancias pécticas para que PG pueda actuar. Recientemente

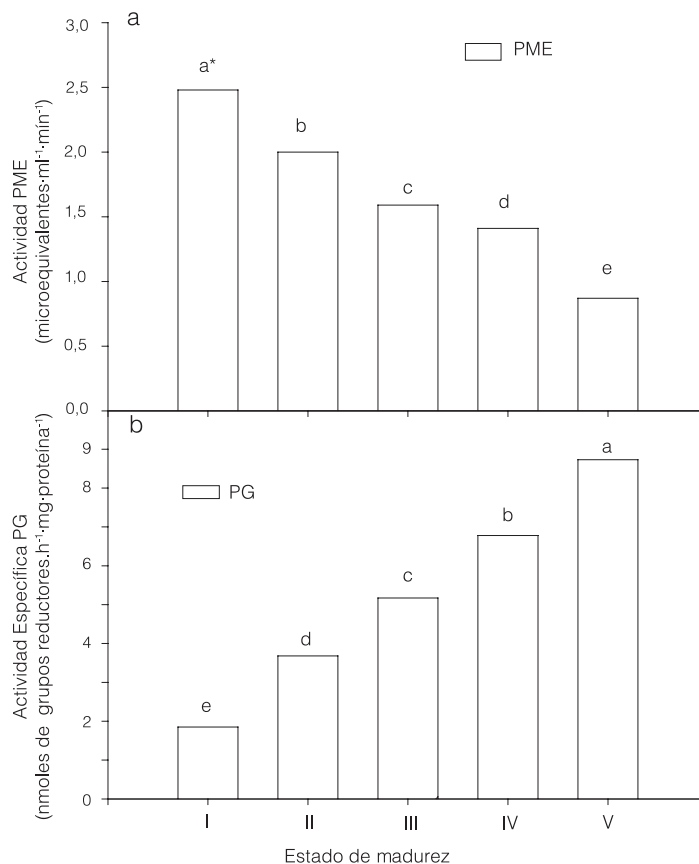


Figura 2. Actividad pectinmetilesterasa (a) y poligalacturonasa (b) de durazno 'Flordaprince' en diferentes estados de madurez. Medias con letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

mente se ha sugerido que la modificación en la carga de la pared celular y la disminución en el pH del apoplasto causado por la actividad PME regulan y determinan su propia actividad. Adicionalmente, se menciona que el efecto de PME de disminuir el pH del apoplasto durante la maduración del fruto es un mecanismo para la regulación de la actividad de otras enzimas de pared celular. En tomate se ha mostrado que la expresión de PME es mayor en el estado maduro-verde cuando el pH del apoplasto es adecuado para su actividad, y disminuye durante la maduración a medida que aumenta la acidificación del apoplasto. Por el contrario, PG comienza a acumularse al inicio de maduración, cuando el pH del apoplasto no es adecuado para su actividad y continúa acumulándose durante la maduración a medida que el pH es favorable (Goulao, 2010).

Al comparar la actividad PME con los cambios en firmeza durante la maduración de durazno 'Flordaprince' se observa que ambas variables mostraron una tendencia similar a disminuir al avanzar la maduración de los frutos.

Actividad poligalacturonasa (PG)

Los duraznos cosechados en los primeros estados de madurez (EM I; madurez fisiológica) presentaron una baja actividad PG (1,85nmol de grupos reductores·h⁻¹·mg de proteína⁻¹), que se incrementó significativamente al avanzar la madurez de los frutos alcanzando valores de 8,73 en los frutos del EM V (Figura 2). Este comportamiento de la actividad PG durante la maduración de durazno 'Flordaprince' coincide con lo observado en duraznos 'Elberta' y 'O'Henry' por Pressey *et al.* (1971) y Brummell *et al.*

(2004), respectivamente. Estos autores observaron que la actividad PG es baja al inicio de maduración y se incrementa continuamente al avanzar la maduración de los frutos en el árbol, alcanzando los mayores valores en los frutos completamente maduros. Pressey *et al.* (1971) encontraron que la actividad poligalacturonasa está ausente en duraznos 'Elberta' inmaduros y se incrementa a medida que avanza la maduración del fruto. De la misma manera, Orr y Brady (1993) mostraron que en durazno 'Flavorcrest', variedad de hueso despegado, la actividad endo-PG se incrementó ligeramente en la etapa de ablandamiento inicial de los frutos, incrementándose marcadamente durante la maduración hasta alcanzar valores de 7,1 a 9,3nmol·min⁻¹·g⁻¹ en frutos completamente maduros y muy blandos. Lester *et al.* (1994) atribuyeron el ablandamiento del durazno 'Flavorcrest' a una endo-poligalacturonasa que se expresa intensamente después del aumento climático de etileno. Endo-PG (EC 3.2.1.15) cataliza al azar la hidrólisis de enlaces internos de α -1,4-D-galacturonano no esterificado, mientras que exo-PG (EC 3.2.1.67) hidroliza unidades sencillas de ácido galacturónico del extremo no reductor de la molécula de ácido poligalacturónico. El sustrato de PG en la pared celular es principalmente homogalacturonano, el cual se secreta a la pared celular en una forma altamente metil-esterificada, que debe ser desesterificada antes de que pueda ser sustrato de PG. Se sugiere que PG actúa para depolimerizar pectina enlazada covalentemente y solubilizarla en una fracción soluble en agua (Brummell y Harpster, 2001).

Al comparar la actividad PG con los cambios en firmeza durante la maduración de durazno 'Flordaprince' se observa que la firmeza mostró una tendencia a disminuir al avanzar la maduración de los frutos. En cambio, la actividad PG aumentó.

En el presente estudio los duraznos del EM I ya presentaban actividad PG y mostraban altos valores de actividad PME, lo que sugiere que el ablandamiento de los frutos tuvo inicio en etapas de maduración más tempranas. Al comparar los cambios en la actividad de ambas enzimas se observa que existe un comportamiento inverso, ya que la actividad PG durante la maduración de durazno 'Flordaprince' aumenta a medida que la actividad PME disminuye. Este comportamiento en la actividad PME y PG ha sido informado en tomate y se ha asociado con los cambios en el pH del apoplasto (Goulao, 2010).

Conclusiones

Los SST y relación SST/AT de los frutos aumentaron conforme avanzó la maduración de los mismos, mientras que la AT y la firmeza disminuyeron.

El ángulo de tono de la epidermis disminuyó al avanzar la maduración del fruto. El durazno 'Flordaprince' se comportó como un durazno de pulpa blanda, mostrando cambios notables en firmeza durante su maduración. Los frutos cosechados en estado de madurez I (98° de ángulo de tono) mostraron la mayor actividad pectinmetilesterasa y la menor actividad poligalacturonasa. La actividad pectinmetilesterasa disminuyó al avanzar la maduración de los frutos, mientras que la actividad poligalacturonasa se incrementó considerablemente coincidiendo con la disminución de firmeza.

Los mayores valores de actividad pectinmetilesterasa y actividad poligalacturonasa en los frutos del estado de madurez I (98° de ángulo de tono), sugieren que el ablandamiento ya se había iniciado en esta etapa de maduración de los frutos.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen a Evelia Araiza Lizarde su apoyo en una etapa de la parte experimental del presente estudio

y a Humberto González Ríos por su apoyo en el análisis estadístico.

REFERENCIAS

- Agozzino P, Avellone G, Filizzola F, Farina V, Lo Bianco R (2007) Changes in quality parameters and volatile aroma compounds in 'Fairtime' peach during fruit development and ripening. *It. J. Food Sci. 1*: 3-14.
- AOAC (1990) *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 15th ed. Washington, DC, EEUU. 1141 pp.
- Bourne MC (1980) Texture evaluation of horticultural crops. *HortScience 15*: 51-57.
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem. 72*: 248-254.
- Brovelli E, Brecht JK, Sherman WS (1998) Potential maturity indices and developmental aspects of melting-flesh and nonmelting-flesh peach genotypes for the fresh market. *J. Am. Soc. Hort. Sci. 123*: 438-444.
- Brummell DA, Harpster MH (2001) Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. *Plant Mol. Biol. 47*: 311-340.
- Brummell DA, Dal CV, Crisosto CH, Labavitch JM (2004) Cell wall metabolism during maturation, ripening and senescence of peach fruit. *J. Exp. Bot. 55*: 2029-2039.
- Byrne DH, Nikolic AN, Burns EE (1991) Variability in sugars, acids, firmness, and color characteristics of 12 peach genotypes. *J. Am. Soc. Hort. Sci. 116*: 1004-1006.
- Cascales AI, Costell E, Romojaro F (2005) Effects of the degree of maturity on the chemical composition, physical characteristics and sensory attributes of peach (*Prunus persica*) cv. Caterin. *Food Sci. Technol. Int. 11*: 345-352.
- Crisosto CH (2002) How do we increase peach consumption? *Acta Hort. 592*: 601-605.
- Crisosto CH, Mitchell FG (2002) Postharvest handling systems: Stone fruits. En Kader AA, (Ed.) *Postharvest Technology of Horticultural Products*. 3^a ed. Agricultural and Natural Resources. Publication 3311. University of California. Oakland, CA., EEUU. pp. 345-356
- Crisosto CH, Johnson RS, Luza JG, Crisosto GM (1994) Irrigation regimes affect fruit soluble solids concentration and rate of water loss of 'O'Henry' peaches. *HortScience 29*: 1169-1171.
- Glover H, Brady CJ (1995) Pectinesterases from mature, unripe peach fruit bind strongly to pectic polysaccharides. *Aust. J. Plant Physiol. 22*: 977-985.
- Goulao LF (2010) Pectin de-esterification and fruit softening: Revisiting a classical hypothesis. *Stewart Postharv. Rev. 6*: 1-12.
- Goulao LF, Oliveira CM (2008) Cell wall modifications during fruit ripening: when a fruit is not the fruit. *Trends Food Sci. Technol. 19*: 4-25.
- Gross KC (1982) A rapid and sensitive spectrophotometric method for assaying polygalacturonase using 2-cyanoacetamide. *HortScience 17*: 933-934.
- Javeri H, Wicker L (1991) Partial purification and characterization of peach pectinesterase. *J. Food Biochem. 15*: 241-252.
- Konica Minolta (1998) *Precise Color Communication. Color Control from Perception to Instrumentation*. Osaka, Japan. 59 pp.
- Lester DR, Speirs J, Orr G, Brady CJ (1994) Peach (*Prunus persica*) endopolygalacturonase cDNA isolation and mRNA analysis in melting and nonmelting peach cultivars. *Plant Physiol. 105*: 225-231.
- Manganaris GA, Vasilakakis M, Mignani I, Manganaris A (2008) Cell wall physicochemical properties as indicators of peach quality during fruit ripening after cold storage. *Food Sci. Technol. Int. 14*: 385-391.
- McGuire RG (1992) Reporting of objective color measurements. *HortScience 27*: 1254-1255.
- Moing A, Svanella L, Rolin D, Gaudillere M, Gaudillere JP, Monet R (1998) Compositional changes during the fruit development of two peach cultivars differing in juice acidity. *J. Am. Soc. Hort. Sci. 123*: 770-775.
- Morgutti N, Negrini N, Nocito FF, Ghiani A, Bassi D, Cocucci DM (2006) Changes in endopolygalacturonase levels and characterization of a putative endo-PG gene during fruit softening in peach genotypes with non-melting and melting flesh fruit phenotypes. *New Phytol. 171*: 315-328.
- Orr G, Brady C (1993) Relationship of endopolygalacturonase activity to fruit softening in a freestone peach. *Postharv. Biol. Technol. 3*: 121-130.
- Ortiz de Zárate VG, Güemes DR, Piagentini AM, Gariglio NF, Pirovani ME (2007) Comparación de la calidad de duraznos de diferentes variedades cultivadas en la región centro-este

de la Provincia de Santa Fe. *Rev. FAVE-Cienc. Agrar. 5/6*: 27-33.

- Porter GW, Turnbull CGN, Sherman WB (2000) Fruit firmness and pectinmethylesterase activity during on-tree ripening of peach. *Proc. Fla. St. Hort. Soc. 113*: 32-34.
- Pressey R, Hinton DM, Avants JK (1971) Development of polygalacturonase activity and solubilization of pectin in peaches during ripening. *J. Food Sci. 36*: 1070-1073.
- Pressey R, Avants J (1978) Difference in polygalacturonase composition of clingstone and freestone peaches. *J. Food Sci. 43*: 1415-1423.
- Rodríguez-Félix A, Villegas-Ochoa MA, Soto-Valdez H, Silveira-Gramont MI (1996a) Patrón de maduración de durazno 'Flordaprince'. *Hortic. Mex. 4*: 119-129.
- Rodríguez-Félix A, Villegas-Ochoa MA, Soto-Valdez H, Silveira-Gramont MI (1996b) Evaluación sensorial de la calidad de durazno 'Flordaprince' cosechados en diferentes estadios de madurez. *Hort. Mex. 4*: 130-135.
- Rouse AH, Atkins CD (1955) Pectinesterase and pectin in commercial citrus juices as determined by methods used at the Citrus Experiment Station. *Fla. Agr. Exp. Sta. Bull. 570*: 1-19.
- SAS (1986) *System for Windows 3.95. Versión 6.08*. SAS Institute Inc. Cary, NC, EEUU.
- Sherman SB, Topp BL, Lyrene PM (1990) Non-melting flesh for fresh market peaches. *Proc. Fla. St. Hort. Soc. 103*: 293-294.
- Sherman WB, Lyrene PM, Mortensen JA, Sharpe RH (1982) 'Flordaprince' peach. *HortScience 17*: 988.
- Shewfelt AL (1965) Changes and variations in the pectic constitution of ripening peaches as related to product firmness. *J. Food Sci. 30*: 573-576.
- Tonutti P, Bonghi C, Ruperti B, Tornielli GB, Ramina A (1997) Ethylene evolution and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase gene expression during early development and ripening of peach fruit. *J. Am. Soc. Hort. Sci. 122*: 642-647.
- Wert TW, Williamson JG, Chaparro JX, Miller EP, Rouse RE (2009) The influence of climate on fruit development and quality of four low-chill peach cultivars. *HortScience 44*: 666-670.
- Wicker L, Braddock RJ, Vassallo M (1987) Effect of assay temperature on activity of citrus pectinesterase in fresh orange juice. *J. Food Sci. 52*: 378-380.