



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

---

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD**

**FISIOLOGÍA VEGETAL**

## **CALIDAD Y ENFERMEDADES POSTCOSECHA DE DOS GENOTIPOS DE CHAYOTE (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.)**

**LAURA ANGELICA MONTECINOS PEDRO**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO**

**2018**

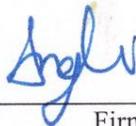
---

**CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION**

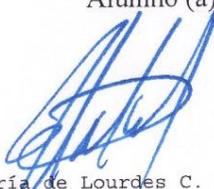
En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe Laura Angelica Montecinos Pedro, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser participe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor Dra. María de Lourdes C. Arévalo Galarza, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis Calidad y enfermedades postcosecha de dos genotipos de chayote (Sechium edule (Jacq.) Sw.)

y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 13 de Julio de 2018



Firma del  
Alumno (a)



Dra. María de Lourdes C. Arévalo Galarza

Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: **“CALIDAD Y ENFERMEDADES POSTCOSECHA DE DOS GENOTIPOS DE CHAYOTE (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.)”** realizada por la alumna: **Laura Angélica Montecinos Pedro** bajo dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS

FISIOLOGÍA VEGETAL

**CONSEJO PARTICULAR**

**CONSEJERA**

**DRA. MA. DE LOURDES AREVALO GALARZA**

**ASESORA**

**DRA. MARTHA ELVA RAMÍREZ GUZMAN**

**ASESOR**

**DR. JORGE CADENA IÑIGUEZ**

**ASESORA**

**M.C. CECILIA GARCIA OSORIO**

**Montecillo, Estado de México. Julio del 2018.**

# CALIDAD Y ENFERMEDADES POSTCOSECHA DE DOS GENOTIPOS DE CHAYOTE (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.)

Laura Angélica Montecinos Pedro, M. en C.  
Colegio de Postgraduados, 2018

## RESUMEN

Los frutos de chayote (*Sechium edule* Jacq.) var. *nigrum spinosum* y var. *virens levis* son dos de los principales genotipos que se comercializan en México, Estados Unidos y Canadá, siendo las comunidades latina y asiática sus mayores consumidores. Actualmente existe poca información del comportamiento postcosecha de estos, así como los agentes causales de las enfermedades que los atacan durante el almacenamiento. Por ello se cosecharon frutos de *nigrum spinosum* en madurez hortícola y se almacenaron a temperatura ambiente ( $20 \pm 2$  °C, 60 % HR) y a baja temperatura ( $10 \pm 1$  °C, 85 % HR) durante tres periodos de tiempo (3, 6 y 9 semanas) con y sin la aplicación de 1-metilciclopropeno (0, 500 y 1000 nL L<sup>-1</sup>) para reducir el viviparismo. Para el caso de los frutos de *virens levis* se cosecharon en madurez hortícola y se empacaron con tres diferentes empaques (malla, papel y bolsa) y se almacenaron a temperatura ambiente ( $20 \pm 2$  °C) y a baja temperatura ( $10 \pm 1$  °C, 85 % HR) durante dos periodos de tiempo (2 y 4 semanas) con y sin la aplicación de 1-metilciclopropeno (0 y 500 nL L<sup>-1</sup>). Las variables evaluadas para ambos genotipos fueron: porcentaje de humedad, acidez titulable, SST (°Brix), contenido de clorofila *a* y *b*, y total, contenido de azúcares totales (sacarosa, fructosa y glucosa), pérdida de peso y porcentaje de viviparismo. Los resultados mostraron que los frutos de *nigrum spinosum* mantuvieron sus características de apariencia con el almacenamiento hasta por 3 semanas, pero no a 6 y 9 semanas, aunque las dosis de 1-MCP (500 y 1000 nL L<sup>-1</sup>) redujeron significativamente el viviparismo, incrementaron la susceptibilidad a desarrollar pudrición causado por *Fusarium incarnatum*. Los frutos de *virens levis* mantuvieron su apariencia con el almacenamiento hasta por dos semanas, pero no a cuatro, y el uso de malla y papel generaron mayor incidencia del síntoma de ampolla que el uso de bolsa, y se identificó a *Colletotrichum musae* como el agente causal de la ampolla.

**Palabras clave:** *virens levis*, *nigrum spinosum*, 1-MCP, almacenamiento, agente causal.

## QUALITY AND POSTHARVEST DISEASES OF TWO GENOTYPES OF CHAYOTE (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.)

Laura Angelica Montecinos Pedro, M. en C.  
Colegio de Postgraduados, 2018

### ABSTRACT

The fruits of chayote *nigrum spinosum* and *virens levis* are two of the main genotypes that are commercialized in Mexico, the United States and Canada, with the Latin and Asian communities being the main consumers. Currently there is little information on the postharvest behavior of these genotypes as well as the causal agents of the diseases that attack them during storage and trading. Therefore *nigrum spinosum* fruits were harvested at horticultural maturity and stored at room temperature ( $20 \pm 2$  ° C) and at low temperature ( $10 \pm 1$  ° C, 85% RH) for three periods of time (3, 6 and 9 weeks) with and without the application of 1-methylcyclopropene (0, 500 and 1000 nL L<sup>-1</sup>) to reduce viviparity. In the case of the fruits of *virens levis* were harvested in horticultural maturity, were stored with three different packages (mesh, paper and plastic bag) at room temperature ( $20 \pm 2$  ° C, 60 % RH) and at low temperature ( $10 \pm 1$  ° C; 85% RH) during two periods of time (2 and 4 weeks) with and without the application of 1-methylcyclopropene (0 and 500 nL L<sup>-1</sup>). The variables evaluated for both genotypes were: percentage of humidity, titratable acidity, SST (°Brix), content of chlorophyll *a* and *b*, and total, content of total sugars (sucrose, fructose and glucose), weight loss and percentage of viviparity. The results showed that the fruits of *nigrum spinosum* maintained their appearance characteristics with storage for up to 3 weeks, but not at 6 and 9 weeks, although the doses of 1-MCP (500 and 1000 nL L<sup>-1</sup>) significantly reduced the viviparity, increased the susceptibility to develop rot caused by *Fusarium incarnatum*. The fruits of *virens levis* maintained their appearance with storage for up to 2 weeks, but not at 4 weeks, the use of mesh and paper generated a higher incidence of the blister symptom than the use of plastic bag, the causal agent of the blister was identified as *Colletotrichum musae*.

**Key words:** *virens levis*, *nigrum spinosum*, 1-MCP, storage, causal agent.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo en la realización de la Maestría.

Al Colegio de Postgraduados Campus Montecillo y al Programa de Postgrado de Fisiología Vegetal.

A los miembros del Consejo Particular de la presente investigación: a la Dra. Ma. de Lourdes C. Arévalo Galarza, a la Dra. Martha Elva Ramírez Guzmán, a la M.C. Cecilia García Osorio, a la M.C. Victoria Ayala Escobar y al Dr. Jorge Cadena Iñiguez, gracias por orientarme, brindarme su amplia experiencia, compartirme su valioso tiempo, su entereza, su gran paciencia, por tener en todo momento su acertado consejo y por estar presentes durante estos años siendo mis maestros de vida, gracias porque solo me han dejado lecciones para seguir adelante y con ello ascender a una mejor versión de mí.

Al M.C. David Jaén Contreras del Laboratorio de Postcosecha de Laboratorios Generales; al Dr. Daniel Nieto Ángel, Dra. Alejandra Almaraz Sánchez, M.C. Diana Becerra Morales, M.C. Laura Chi García y al M.C. José Terrones Salgado, que pertenecen al laboratorio de Enfermedades Postcosecha 22A del Postgrado de Fitosanidad-Fitopatología del Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo, por su apoyo técnico, experiencia y tiempo. Además, a Raúl Rodríguez Ruelas por su tiempo y apoyo logístico para culminar este ciclo.

A toda persona que desinteresadamente y directa o indirectamente haya contribuido a la realización de este trabajo.

## DEDICATORIA

A la vida, a Dios, a Morenuluchi, a mi familia.

### **EL HOMBRE EN LA ARENA**

No es el crítico el que cuenta; ni el hombre que señala como el fuerte tropieza, o donde el realizador de hazañas podría haberlo hecho mejor. El reconocimiento pertenece al hombre que está realmente en la arena, cuyo rostro está manchado de polvo, sudor y sangre; que lucha valientemente; que se equivoca; quien se queda corto una y otra vez, porque no existe esfuerzo sin error ni deficiencia; pero que se esfuerza realmente por realizar proezas; que conoce el gran entusiasmo, la gran devoción; quien se fatiga el mismo en pos de un noble empeño; quien si al final, todo va bien, conoce el triunfo que significa alcanzar un gran logro, y si sale mal, si falla, al menos falla atreviéndose formidablemente, de modo que su lugar nunca debe estar junto a esas frías y tímidas almas que no conocieron ni la victoria ni la derrota.

---

*Theodore Roosevelt*

## CONTENIDO

RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
AGRADECIMIENTOS.....	vi
DEDICATORIA.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE CUADROS.....	xiv
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
Objetivo general.....	2
Objetivos particulares.....	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Importancia económica del chayote en México y el Mundo.....	3
Características generales del fruto.....	4
Características de los principales genotipos de chayote ( <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.).....	5
Requerimientos climáticos del cultivo de chayote.....	7
Características postcosecha de chayote.....	7
Viviparismo.....	8
Enfermedades postcosecha.....	8
Características postcosecha de frutos de la familia Cucurbitaceae.....	9
Literatura citada.....	14
CAPITULO I. CALIDAD POSTCOSECHA DE FRUTOS DE CHAYOTE ( <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.) <i>var. nigrum spinosum</i> ALMACENADOS A BAJA TEMPERATURA.....	18
1.1 RESUMEN.....	18
1.2 ABSTRACT.....	19
1.3 INTRODUCCIÓN.....	20
1.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
1.6 CONCLUSIONES.....	31
1.7 LITERATURA CITADA.....	31
CAPITULO II. <i>Fusarium incarnatum</i> CAUSANTE DE LA PUDRICIÓN.....	34

2.1.	RESUMEN.....	34
2.2.	ABSTRACT .....	35
2.3	INTRODUCCIÓN.....	36
2.4	MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
2.5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
2.6	CONCLUSIONES.....	45
2.7	LITERATURA CITADA .....	46
<b>CAPITULO III. EMPAQUE Y ALMACENAMIENTO DE FRUTOS DE CHAYOTE</b>		
	<i>(Sechium edule (Jacq.) Sw.) var. virens levis</i> .....	49
3.1.	RESUMEN.....	49
3.2.	ABSTRACT .....	50
3.3.	INTRODUCCIÓN.....	51
3.4.	MATERIALES Y METODOS.....	52
3.5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	59
3.1.	CONCLUSIONES.....	68
3.2.	LITERATURA CITADA .....	69
<b>CAPÍTULO IV. <i>Colletotrichum musae</i> ASOCIADO AL SÍNTOMA DE AMPOLLA</b> .....		
4.1.	RESUMEN.....	71
4.2.	ABSTRACT .....	72
4.3.	INTRODUCCIÓN.....	73
4.4.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	75
4.5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	78
4.6.	CONCLUSIONES.....	83
4.7.	LITERATURA CITADA .....	83

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Producción agrícola y el valor de la producción de los principales Estados productores de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) (SIAP, 2016). ..... 3
- Figura 2.** Genotipos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.), A: *nigrum spinosum* y B: *virens levis*. ..... 6
- Figura 3.** Viviparismo en los frutos de dos genotipos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw A: *var. nigrum spinosum* y B: *var. virens levis*. ..... 8

### CAPÍTULO I

- Figura 1.1.** A: Cosecha y B: apariencia de frutos chayote *var. nigrum spinosum* provenientes del Banco de Germoplasma de *Sechium edule* (BANGES<sub>e</sub>) en Huatusco Veracruz. .... 21
- Figura 1.2.** Clasificación de viviparismo en chayote *nigrum spinosum*. A: Nivel 0 = 0; B: nivel 1 = 2; C: nivel 2 = 4. .... 24
- Figura 1.3** Porcentaje de pérdida de peso y viviparismo de frutos de *Sechium edule var. nigrum spinosum*, gráficas A: (0 nL L<sup>-1</sup>, 1-MCP), B: (500 nL L<sup>-1</sup>, 1-MCP) y C: (1000 nL L<sup>-1</sup>, 1-MCP) mantenidos a temperatura ambiente y D (0 nL L<sup>-1</sup>, 1-MCP), E (500 nL L<sup>-1</sup>, 1-MCP) y F (1000 nL L<sup>-1</sup>, 1-MCP) frutos almacenados 3 semanas a 10 °C y mantenidos a temperatura ambiente por 11 días. .... 29
- Figura 1.4** Apariencia de frutos de *Sechium edule var. nigrum spinosum* almacenados a diferentes tiempos (temperatura ambiente, 3s (tres semanas), 6s (seis semanas) y 9s (nueve semanas) con la aplicación de 1-MCP (0, 500 y 1000 nL L<sup>-1</sup>). Inicial (Día 0); salida del almacenamiento refrigerado (10 °C, 85 % HR) (Día 1) y 11 días después del almacenamiento (Día 11). .... 30

### CAPÍTULO II

- Figura 2.1.** A: Chayote *nigrum spinosum* con síntoma de pudrición en la epidermis del fruto. B: Corte de tejido colocado en cámara húmeda. .... 38

<b>Figura 2.2.</b> Frutos de <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw var. <i>nigrum spinosum</i> dentro de cámaras húmedas para pruebas de patogenicidad. A: Testigo asperjado con agua destilada y B: Inoculación del fruto con suspensión de conidios y discos del hongo aislado. .	40
<b>Figura 2.3.</b> A: Macroconidios de <i>Fusarium incarnatum</i> (magnificación 40 X); y B: Colonia aislada y purificada del síntoma de pudrición en frutos de <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw var. <i>nigrum spinosum</i> en vista superior. ....	41
<b>Figura 2.4.</b> Síntoma de pudrición en frutos de <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw var. <i>nigrum spinosum</i> causado por <i>Fusarium incarnatum</i> después de 30 d de la inoculación. A: testigo y B: Frutos inoculados con suspensión y disco presentaron los síntomas. ....	43
<b>Figura 2.5.</b> A) Corte transversal de frutos de <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw var. <i>nigrum spinosum</i> con síntoma de pudrición causado por <i>Fusarium incarnatum</i> . B) Micrografía de barrido de corte de epidermis de chayote verde espinoso, con gran cantidad de gránulos de almidón (10 kV; X 200). ....	45

### CAPÍTULO III

<b>Figura 3.1.</b> Frutos de chayote ( <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.) var. <i>virens levis</i> pre empacados para exportación, de donde se tomó la muestra. ....	52
<b>Figura 3.2.</b> . Frutos de chayote ( <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.) var. <i>virens levis</i> empacados con A: bolsa plástica, B: malla y C: papel. ....	53
<b>Figura 3.3.</b> Frutos de chayote ( <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.) var. <i>virens levis</i> marcados con un círculo para la medición de color a través de tiempo. ....	56
<b>Figura 3.4.</b> Clasificación de viviparismo en chayote <i>virens levis</i> A: Nivel 0 = 0; B: nivel 1= 2; y C: nivel 2 = 4. ....	57
<b>Figura 3.5.</b> Escala gráfica de la clasificación del número de ampollas observadas en la epidermis de frutos de chayote ( <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.) var. <i>virens levis</i> . ....	58
<b>Figura 3.6.</b> A: Relación de pérdida de peso (símbolos sin centro) y viviparismo (símbolos con relleno) de frutos de chayote ( <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.) var. <i>virens levis</i> (n=10) en diferentes condiciones de almacenamiento y empaque. Temperatura ambiente (20 ± 2 °C, 60 % HR): A= 0 nL L <sup>-1</sup> y B= 500 nL L <sup>-1</sup> de 1-MCP. Almacenamiento refrigerado por 2 semanas (10 ± 1 °C, 85 % HR): C=0 nL L <sup>-1</sup> y D= 500 nL L <sup>-1</sup> de	

1-MCP. Almacenamiento refrigerado por 4 semanas: E=0 nL L <sup>-1</sup> y F= 500 nL L <sup>-1</sup> de 1-MCP.....	63
<b>Figura 3.7.</b> A: Escala de viviparismo de frutos de chayote ( <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.) var. <i>virens levis</i> a los 13 días a temperatura ambiente 20 ± 2 °C (60 % HR) empacado en bolsa, malla y papel, y con dosis de 0, 500 nL L <sup>-1</sup> de 1-MCP; B: Incidencia de viviparismo, y C: Incidencia de viviparismo después de 4 semanas de almacenamiento en refrigeración (10 ± 1 °C, 85 % HR) empacados en bolsa, malla y papel, con dosis de 1-MCP de y 500 nL L <sup>-1</sup> y evaluados a temperatura ambiente hasta los 11 d.....	64
<b>Figura 3.8.</b> Nivel de ampolla registrada en frutos de chayote ( <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.) var. <i>virens levis</i> empacado en (A) bolsa, (B) malla y (C) papel bajo temperatura ambiente con 0 y 500 nL L <sup>-1</sup> de 1-MCP a los 13 días.....	66
<b>Figura 3.9.</b> Nivel de ampolla registrado en frutos de chayote ( <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.) var. <i>virens levis</i> empacado en (A) bolsa,(B) malla y (C) papel, después de 2 semanas de almacenamiento en refrigeración a 10 ± 1 °C (85 % HR) con dosis de 0 y 500 nL L <sup>-1</sup> de 1-MCP y puestos a temperatura ambiente hasta los 11 días.....	67
<b>Figura 3.10.</b> Nivel de ampolla registrado en frutos de chayote ( <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.) var. <i>virens levis</i> empacado en (A) bolsa, (B) malla y (C) papel, después de 4 semanas de almacenamiento en refrigeración a 10 ± 1 °C con dosis de 0 y 500 nL L <sup>-1</sup> de 1-MCP y puestos a temperatura ambiente hasta los 11 días.....	67

## CAPÍTULO IV

<b>Figura 4.1.</b> A: Frutos de chayote ( <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.) var. <i>virens levis</i> con síntoma de ampolla distribuido en la epidermis del fruto. B: Cortes de ampolla colocados en cámara húmeda. ....	75
<b>Figura 4.2.</b> A: Inoculación de frutos de chayote ( <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.) var. <i>virens levis</i> mediante aspersión con suspensión de conidios. B: Chayote de cuatro a seis días de crecimiento. C) Síntomas iniciales de ampolla .....	77
<b>Figura 4.3.</b> A) Conidios de <i>Colletotrichum musae</i> (magnificación 40 X); B) Acérvulo aislado en tejido enfermo de frutos de chayote ( <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.) var. <i>virens</i>	

	<i>levis</i> (magnificación 16 X) y C) Colonias aisladas del síntoma de ampolla en chayote <i>virens levis</i> en vista superior.....	79
<b>Figura 4.4.</b>	Apresorios formados de los conidios de <i>Colletotrichum musae</i> a 40X. ....	80
<b>Figura 4.5.</b>	Árbol filogenético de <i>Colletotrichum musae</i> alineados con las secuencias de la región Actina de varios hospederos y países registradas en GenBank. ....	81
<b>Figura 4.6.</b>	Síntomas iniciales de ampolla presentado en frutos de chayote ( <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.) <i>var. virens levis</i> después de 15 días de ser asperjado con suspensión de conidios de <i>C. musae</i> .....	82

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Datos de la producción agrícola de 2015 de los Estados productores de chayote ( <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.) (SIAP, 2016).....	4
<b>Cuadro 2.</b> Datos nutricionales del chayote hervido, escurrido y sin sal (USDA, 2016) .....	5
<b>Cuadro 3.</b> Contenido de compuestos terpénicos, sólidos solubles, acidez titulable, ácido ascórbico, de clorofila a, b, y carotenoides totales en <i>nigrum spinosum</i> (Vera-Sánchez <i>et al.</i> , 2016). .....	6
<b>Cuadro 4.</b> Tipo de fruto de algunas cucurbitáceas según el estado de madurez.....	9
<b>Cuadro 5.</b> Clasificación de la respiración de algunas cucurbitáceas .....	10
<b>Cuadro 6.</b> Condiciones y tiempo de almacenamiento recomendadas de algunas cucurbitáceas .....	11

## CAPÍTULO I

<b>Cuadro 1.1.</b> Contenido de humedad, acidez titulable (% AT), sólidos solubles totales (% SST) y clorofila (mg 100 g <sup>-1</sup> ) en <i>Sechium edule</i> var. <i>nigrum spinosum</i> bajo diferentes tiempos de almacenamiento y dosis de 1-MCP. ....	27
---	----

## CAPÍTULO III

<b>Cuadro 3.1.</b> Distribución de los tratamientos para el experimento con chayote <i>virens levis</i> . ....	53
<b>Cuadro 3.2.</b> Contenido de humedad, acidez titulable, sólidos solubles totales, clorofilas y azúcares en frutos de chayote ( <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.) var. <i>virens levis</i> a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) y a la salida de 2 y 4 semanas de almacenamiento bajo refrigeración (10 ± 1 °C), dosis de 1-MCP y empaques .....	60

## INTRODUCCIÓN GENERAL

México y Centroamérica han sido depositarios, de una gran riqueza de especies de interés agrícola, muchas de los cuales tienen gran importancia actualmente en la producción agrícola nacional y mundial (Ortega-Paczka *et al.*, 1988). Las especies cultivadas que se originaron o domesticaron en México son el patrimonio milenario que podemos disfrutar en gran diversidad de productos y que debemos resguardar para las generaciones futuras. El chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.), es una de estas especies, que normalmente se consume en fresco, siendo el estado de Veracruz el principal productor a nivel mundial, pero también junto con Chiapas y Oaxaca, donde encontramos mayor diversidad (SAGARPA-SIAP, 2016; Becerra-Zavaleta, 2013). En México encontramos más de 10 variedades de uso común o genotipos que tienen demanda en mercados locales, sin embargo, las más ampliamente comercializadas son el chayote espinoso (*nigrum spinosum*) y el verde liso (*virens levis*).

Los municipios de Huatusco y Coscomatepec de Veracruz, México, son importantes productores nacionales de chayote, lo que genera empleo y desarrollo en la zona; sin embargo existe poca información relacionada con un buen manejo postcosecha, que involucre las temperaturas y tiempos óptimos de almacenamiento refrigerado, control de enfermedades y reducción del viviparismo (germinación de la semilla dentro de la semilla) además de mantener la calidad organoléptica (color y apariencia) e inocuidad adecuados para su comercialización (Valverde *et al.*, 1989; Cadena-Iñiguez, *et al.*, 2007). Por lo anterior es necesario generar investigación que responda a las necesidades de los productores.

En esta investigación, se realizó un estudio postcosecha de los genotipos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) var. *nigrum spinosum* (negro espinoso) y var. *virens levis* (verde liso), evaluando diferentes concentraciones de 1-metilciclopropeno (1-MCP) y su respuesta al viviparismo, bajo condiciones de baja temperatura. Asimismo, se evaluó el uso de empaques individuales: papel, malla y la bolsa de plástico (testigo) sobre la calidad e incidencia de ampolla en chayote *virens levis*, la cual ha sido reportada como un problema postcosecha por Alvarado *et al.*, (1988).

En los frutos de ambos genotipos se evaluaron las variables: pérdida de peso, presencia de viviparismo, porcentaje de humedad, cuantificación de clorofila, SST (°Brix), azúcares solubles totales y la acidez titulable. Además, se identificaron los agentes causales de la pudrición en *nigrum spinosum* y ampolla en *virens levis*, a través del aislamiento, purificación y secuenciación.

Los resultados obtenidos en este trabajo facilitarán el ajuste en el manejo de los frutos que aseguren la calidad postcosecha para cada genotipo, reducir la incidencia de enfermedades postcosecha y generar estrategias para su comercialización, mantener la calidad por mayor tiempo y poder acceder a otros mercados diferentes de los de Norteamérica.

### **Objetivo general**

Evaluar la calidad de dos genotipos de chayote *var. nigrum spinosum* y *var. virens levis* sometido a diferentes tratamientos postcosecha a fin de reducir las pérdidas de calidad e identificar el agente causal de las principales enfermedades postcosecha de los dos genotipos de chayote.

### **Objetivos particulares**

- Evaluar el efecto postcosecha de la aplicación de diferentes dosis de 1-MCP en los genotipos chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) *var. nigrum spinosum* y *var. virens levis* con el fin de prolongar su vida de anaquel y reducir el viviparismo.
- Determinar la susceptibilidad de almacenamiento refrigerado de los genotipos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) *var. nigrum spinosum* y *var. virens levis* bajo diferentes tiempos de almacenamiento.
- Identificar el agente causal del síntoma de pudrición en la *var. nigrum spinosum*.
- Evaluar el comportamiento postcosecha de frutos de chayote de la *var. virens levis* con el uso de diferentes tipos de empaque
- Identificar el agente causal del síntoma de ampolla en la *var. virens levis*.

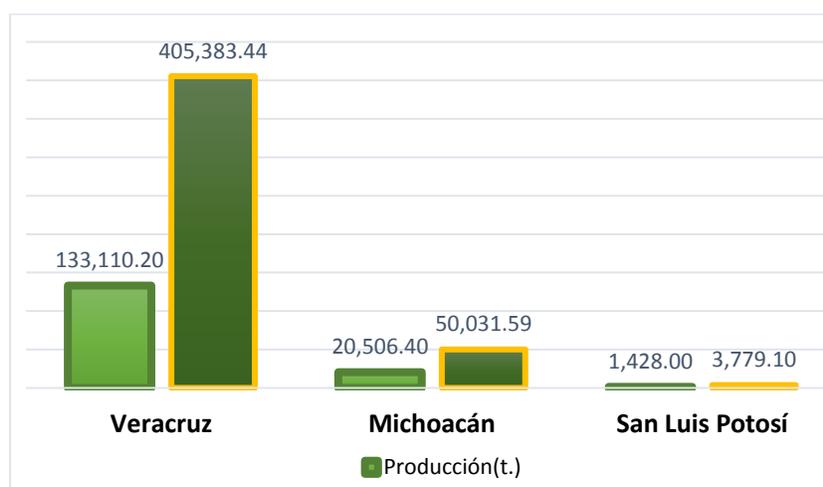
## REVISIÓN DE LITERATURA

### Importancia económica del chayote en México y el Mundo

México es el centro de origen, domesticación y diversificación del chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.). Actualmente, la comercialización de los frutos de esta especie en México y Centroamérica, recae en los genotipos: *virens levis* que se identifica como verde liso y *nigrum spinosum* como espinoso, incrementando sus exportaciones en los últimos años hacia Estados Unidos de Norteamérica y Canadá (Galindo-Leal, 2017; Cadena-Iñiguez *et al.*, 2016).

Los principales países productores de chayote son: México, Costa Rica, Guatemala, Brasil, Estados Unidos de Norteamérica, Argelia, India, Nueva Zelanda y Australia. Asimismo, los principales países consumidores son Estados Unidos y Canadá, donde se dirigen la mayoría de las exportaciones de chayote, pues debido a la población asiática y latinoamericana el mercado es más estable y demandante (SINAREFI, 2015; Sistema Producto Chayote, 2012).

Los principales estados productores de chayote en México son: Chiapas, Michoacán, Estado de México, Nayarit, Jalisco y Veracruz, este último es el principal productor nacional con una superficie aproximada de 2,500 ha que aportan el 87 % del volumen total con producción durante todo el año (SNICS, 2015) (Figura 1, Cuadro 1).



**Figura 1.** Producción agrícola y el valor de la producción de los principales Estados productores de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) (SIAP, 2016).

**Cuadro 1.** Datos de la producción agrícola de 2015 de los Estados productores de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) (SIAP, 2016).

Producción agrícola por Estado del 2015 del cultivo del chayote						
Estados productores	Superficie Sembrada (ha)	Superficie Cosechada (ha)	Producción (t)	Rendimiento (t ha <sup>-1</sup> )	PMR (\$ t <sup>-1</sup> )	Valor Producción (Miles de Pesos)
Veracruz	2,005.00	2,005.00	133,110.20	66.39	3,045.47	405,383.44
Michoacán	251	251	20,506.40	81.7	2,439.80	50,031.59
San Luis Potosí	84	84	1,428.00	17	2,646.43	3,779.10
Jalisco	14	14	285.6	20.4	7,600.00	2,170.56
Yucatán	10.86	6.96	140.98	20.26	4,030.00	568.15
Tabasco	12	12	122.4	10.2	3,294.39	403.23
Puebla	43.5	43.5	91.9	2.11	3,121.76	286.89
<b>Total</b>	<b>2,420.36</b>	<b>2,416.46</b>	<b>155,685.48</b>	<b>64.43</b>	<b>2,971.52</b>	<b>462,622.97</b>

### Características generales del fruto

El chayote es una planta originaria de Mesoamérica cuyo nombre en náhuatl significa calabaza espinosa, presenta una amplia variación en la forma y color de frutos (SINAREFI, 2015). Se han clasificado a los frutos en tres grandes grupos: blancos (amarillos), verdes y espinosos. A escala comercial los dos tipos preferentes de chayote, son el verde liso (del grupo varietal *virens levis*) y espinoso (grupo varietal *nigrum spinosum*) (GISeM, 2011). Este fruto tiene múltiples usos, tanto de consumo humano, animal e industrial, además tiene propiedades medicinales (Monroy-Vázquez *et al.*, 2009). La medicina tradicional lo usa como diurético, cardiovascular, antiinflamatorio contra calcificaciones renales y arteriosclerosis (Jensen y Lai, 1986). Además, contiene alcaloides no fenólicos, saponinas, esteroides, triterpenos (Salama *et al.*, 1986) (Cuadro 2 y 3).

**Cuadro 2.** Datos nutricionales del chayote hervido, escurrido y sin sal (USDA, 2016)

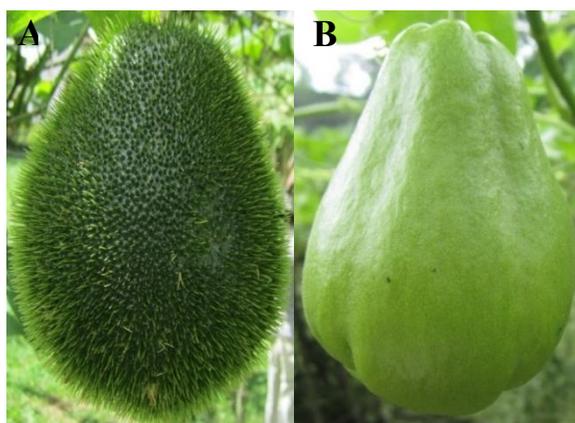
Nutrientes	Unidad	100 g	1 taza= 160.0 g
Agua	g	93.43	149.49
Energía	kcal	24	38
Proteína	g	0.62	0.99
Total de lípidos (grasa)	g	0.48	0.77
Hidratos de carbono, por diferencia	g	5.09	8.14
Fibra, dieta total	g	2.8	4.5
Azúcares, total	g	1.89	3.02
Minerales			
Calcio, Ca	mg	13	21
Hierro, Fe	mg	0.22	0.35
Magnesio, Mg	mg	12	19
Fósforo, P	mg	29	46
Potasio, K	mg	173	277
Sodio, Na	mg	1	2
Zinc, Zn	mg	0.31	0.5
Vitaminas			
Vitamina C, ácido ascórbico total	mg	8	12.8
Thiamin	mg	0.026	0.042
Riboflavina	mg	0.04	0.064
Niacina	mg	0.42	0.672
Vitamina B-6	mg	0.118	0.189
Folato, DFE	µg	18	29
Vitamina B12	µg	0	0
Vitamina A, RAE	µg	0	0
Vitamina A,	IU	0	0
Vitamina E (alfa-tocoferol)	mg	0.14	0.22
Vitamina D (D2 + D3)	µg	0	0
Vitamina D	IU	0	0
Vitamina K (filoquinona)	µg	4.7	7.5
Lípidos			
Ácidos grasos, saturados totales	g	0	0
Ácidos grasos, monoinsaturados totales	g	0	0
Ácidos grasos, poliinsaturados totales	g	0	0
Ácidos grasos, trans total	g	0	0
Colesterol	mg	0	0

**Características de los principales genotipos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.)**

***nigrum spinosum*:** Fruto de color verde claro a verde oscuro, grande piriforme de 5.8 a 17.1 cm de longitud, 5.0 a 12.2 cm de ancho, 3.6 a 9.7 cm de grosor, densamente espinoso (media a alta) cinco costillas no muy marcadas, hendidura basal no muy marcada, pubescencia muy

baja en pedúnculo, mesocarpio verde claro a verde oscuro, sabor neutro ligeramente dulce (6.43 °Brix) y fibra muy adherida al mesocarpio (GISeM, 2011) (Figura 2).

*virens levis*: Fruto mediano a grande, piriforme de 9.3 a 18.3 cm de longitud, 6.0 a 11.40 cm de ancho y 5.40 a 9.60 cm de grosor. Color verde claro (pantone 373c), cinco costillas muy poco marcadas y hendidura basal no muy profunda. Pedúnculo largo con pubescencia muy baja de color verde claro. Mesocarpio color verde claro con sabor ligeramente dulce y fibra medianamente adherida (Figura 2) (GISeM, 2011).



**Figura 2.** Genotipos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.), A: *nigrum spinosum* y B: *virens levis*.

**Cuadro 3.** Contenido de compuestos terpénicos, sólidos solubles, acidez titulable, ácido ascórbico, de clorofila a, b, y carotenoides totales en *nigrum spinosum* (Vera- Sánchez *et al.*, 2016).

Genotipo	Compuestos terpénicos (g·100 g <sup>-1</sup> )	CSS* (°Brix)	Acidez Titulable (%)	Ácido Ascórbico (mg·100 g <sup>-1</sup> )	Color de fruto	Clorofila a (mg·g <sup>-1</sup> )	Clorofila b (mg·g <sup>-1</sup> )	Carotenoides (mg·g <sup>-1</sup> )
<i>nigrum spinosum</i>	0.0190	6.43 ± 0.3	0.038 ± 0.10	4.95 ± 0.49	Verde oscuro	0.084	0.0922	Nd
<i>virens levis</i>	0.116	5.14 ± 0.2	0.040 ± 0.19	6.76 ± 0.16	Verde claro	0.060	0.0712	Nd

Valor medio ± Desviación estándar.  
Nd= No detectado

## Requerimientos climáticos del cultivo de chayote

El chayote es un cultivo de clima tropical que crece bien a altitudes entre 300 y 2000 msnm, con temperaturas óptimas entre 13 a 20 °C, mientras que el chayote verde espinoso proviene de partes altas situadas a 2,400 msnm, los verdes lisos se desarrollan a menor altura (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2001; Avendaño-Arrazate, 2015). Cadena-Iñiguez *et al.*, (2010), identificaron áreas de cultivo de chayote espinoso en altitudes superiores al bosque mesófilo, desde 1,600 a 2,800 msnm, en los estados de Veracruz, Michoacán, Puebla y México; siendo estos dos últimos estados donde se ubican las mayores superficies de producción de este genotipo de chayote.

## Características postcosecha de chayote

El chayote se cosecha en madurez hortícola a los  $18 \pm 2$  días después de la antesis, es una hortaliza con intensidad respiratoria alta, y la *var. nigrum spinosum* registra una tasa más alta ( $15-20 \text{ mL CO}_2 \text{ kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ ), con respecto a la *var. virens levis* ( $5-10 \text{ mL CO}_2 \text{ kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ ). La calidad del chayote está fuertemente influenciada por su alto contenido de agua (90-95 %), color, incidencia de enfermedades y germinación de la semilla dentro del fruto (viviparismo) durante su comercialización (GISeM, 2011).

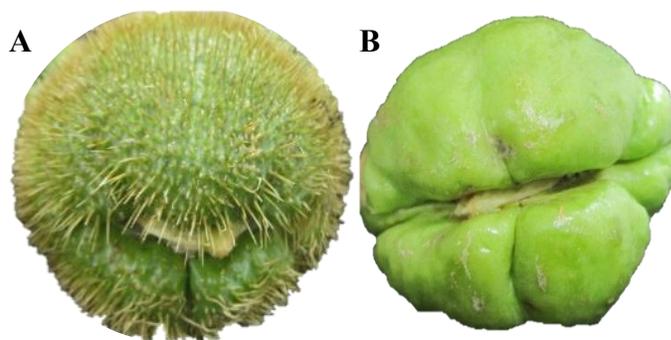
La producción de etileno es cercana a  $5 \text{ ng kg}^{-1}\text{s}^{-1}$ , considerado muy baja, por lo que no es suficiente para generar la descomposición del pericarpio, ni su fermentación, ya que la baja concentración de azúcares y la elevada cantidad de agua no lo favorecen (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2007; Flores, 1989). La deshidratación del fruto debe evitarse, por ello es necesario el uso de bajas temperaturas entre 8 y 10 °C y así prolongar su vida de anaquel. La pérdida de peso de la *var. virens levis* es de 7 % después de 8 días de ser cosechado y almacenado a temperatura ambiente, mientras que de la *var. nigrum spinosum* la pérdida es mayor con 13 a 17 % (GISeM, 2011).

La exposición a temperaturas menores a 7 °C por periodos prolongados causa daños por frío expresándose en depresiones oscuras en la superficie del fruto, deshidratación y finalmente

necrosis. De la misma forma la picadura en la superficie, la descomposición y el pardeamiento interno del chayote pueden aparecer tras almacenar el fruto entre 5 y 7.5 °C (41 y 45 °F), siendo una temperatura más adecuada entre 7.5 y 10 °C (45 y 50 °F) hasta cuatro semanas (GISeM, 2011; Myers y Mayberry, 1998).

### **Viviparismo**

El chayote es una de las pocas especies vivíparas, es decir, que las semillas tienen la capacidad de germinar antes de que el fruto se desprenda de la planta madre (León-Cruz, 1983), esto reduce la vida de anaquel y provoca la reducción de su precio en el mercado (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2016). El viviparismo es considerado un defecto de calidad ya que crea una apariencia desagradable al consumidor, por ello de su importancia de retrasar este proceso (Figura 3). Myers y Mayberry (1998) indican que la germinación de la semilla es un problema si el fruto se mantiene a temperaturas superiores a 13 y 14 °C o (56 y 58 °F), mientras que Aung *et al.*, (2004) reportan que la semilla contenida dentro de la fruta no tiene periodo de latencia, no se deshidrata y brota fácilmente a temperaturas entre 20 y 35 °C.



**Figura 3.** Viviparismo en los frutos de dos genotipos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw A: *var. nigrum spinosum* y B: *var. virens levis*).

### **Enfermedades postcosecha**

La incidencia de enfermedades es una de las principales causas de pérdidas postcosecha, durante esta etapa los frutos de chayote están expuestos a diferentes daños mecánicos provocados por la fricción del fruto y en consecuencia a crear mecanismos de entrada a los

agentes causales de enfermedades, además de presentar en la superficie de la epidermis la presencia de estomas funcionales generalmente abiertos que presentan una vía de entrada de los microorganismos (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2007).

Aun bajo condiciones de baja temperatura como 7 a 10 °C (45-50 °F) con 85 % HR, se llegan a rechazar más del 20 % de un cargamento, por desarrollo de enfermedades, cuyo inicio pudo ser causada por daños mecánicos y daños por frío durante el transporte (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2007).

Se han identificado diversas enfermedades postcosecha que afectan al fruto de chayote: por ejemplo, la vejiga o ampolla causada por *Colletotrichum* sp., antracnosis causada por *Colletotrichum orbiculare*, moho púrpura-rojizo por *Fusarium* spp., moho blanco por *Phytophthora capsici* y la pudrición ácida por *Geotrichum* spp. Sin embargo, uno de los síntomas más frecuentes en chayote verde liso es el denominado *vejiga* o *salpullido* que se ha atribuido a *Micovellosiella cucurbiticola* y *Micovellosiella lantana*, afectando al fruto tanto en campo como en postcosecha y se manifiestan sólo en la época húmeda, pero, las investigaciones antes citadas solo han realizado el aislamiento y descripción de los hongos a través de claves taxonómicas, sin realizar los postulados de Koch ni la secuenciación molecular de los patógenos de interés (MAG, 1991; GISeM, 2011; Vargas, 1987).

#### **Características postcosecha de frutos de la familia Cucurbitaceae**

Los frutos más representativos de la familia Cucurbitaceae son: pepino (*Cucumis sativus*), calabaza (*Cucurbita pepo*), sandía (*Citrullus lanatus*) y melón (*Cucumis melo*), éstos se comercializan según el estado de madurez al momento de la cosecha (Kader, 2002) (Cuadro 4):

**Cuadro 4.** Tipo de fruto de algunas cucurbitáceas según el estado de madurez

<b>Tipo</b>	<b>Cucurbitácea</b>
Frutos inmaduros	Pepino, calabacita chayote.
Frutos maduros	Melón cantaloupe, sandía, calabazas de cáscara dura.

*Intensidad Respiratoria y Producción de etileno:* Durante la vida postcosecha, los frutos y hortalizas tienen cambios fisiológicos, tales como: ablandamiento o degradación de tejido, aumento en niveles de azúcar, descenso en los niveles de ácidos orgánicos, cambios de color por la degradación de clorofila, acompañada por la síntesis de antocianinas o carotenoides durante la maduración, producción y pérdida de compuestos volátiles de sabor y el rompimiento de materiales celulares debido a la respiración (Bautista-Baños *et al.*, 2006).

El etileno es una hormona, producida de manera natural por las plantas como un gas incoloro, que como regulador de crecimiento induce cambios en órganos vegetales, que pueden ser cualidades deseables asociadas con la maduración o producir daños o deterioro prematuro acelerando la degradación de clorofila e inducir al amarillamiento de los tejidos verdes, reduciendo la calidad comercial de los frutos. La exposición a etileno, acelera la pérdida de firmeza de los frutos, debido a que incrementa las actividades de las enzimas pectin metil esterasa, polifenol oxidasa, y peroxidasa (Kader, 2002).

Además, es importante considerar que las heridas durante la cosecha y el transporte afectan el almacenamiento, ya que la producción de etileno también se desencadena por estrés o lesiones, y muchos de los patógenos bacterianos tienen la capacidad de sintetizar etileno. Generalmente las cucurbitáceas son frutos no climatéricos, con baja intensidad respiratoria y producción de etileno, sin embargo, la presencia de etileno, como en otros frutos acelera su deterioro (Bartz y Brecht, 2003).

**Cuadro 5.** Clasificación de la respiración de algunas cucurbitáceas (Kader, 2002)

<b>Respiración</b>	<b>mg CO<sub>2</sub> / kg/ h</b>	<b>Producto</b>
Débil	5-10	Sandía
Moderada	10-20	Pepino
<b>Etileno</b>	<b>μL C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> / kg/ h</b>	<b>Producto</b>
Débil	0.1-1.0	Sandía
Moderada	0.1 -1.0	Pepino

*El uso de 1-MCP:* El almacenamiento de frutas y verduras puede prolongarse mediante el uso de sustancias capaces de limitar la producción de etileno, tales como el uso de 1-MCP (Blankenship y Dole, 2003). La inducción a la biosíntesis del etileno se puede producir en respuesta a la invasión patogénica, heridas, golpes, agresiones químicas o térmicas, daño por frío, y otras condiciones de estrés (McGlasson, 1985). Las respuestas al etileno pueden controlarse regulando su producción (síntesis) o inhibiendo su acción (Watkins, 2006). El 1-metilciclopropeno (1-MCP) se une a los receptores de etileno, impidiendo la unión del etileno y evitando que este actúe desencadenando los procesos propios de maduración y senescencia (Blankenship y Dole, 2003).

Los efectos del 1-MCP son dependientes de la concentración y la duración del tratamiento, siendo la temperatura un componente clave en la aplicación del 1-MCP y más efectivo cuando los frutos y vegetales se exponen por lo menos durante 4 h a temperaturas superior a los 20 °C con diferentes respuestas en frutos, tales como el pepino (*Cucumis sativus*), chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.), sandía (*Citrullus lanatus* Thunb) y la calabaza (*Cucurbita máxima* var. *Zapallito* (Carr.) Millan) (Wills y Golding, 2015; Blankenship y Dole, 2003).

*Vida de anaquel:* La vida de anaquel es el período de tiempo a partir de la fecha de cosecha de los productos hortofrutícolas, durante el cual mantiene una calidad aceptable, y con características óptimas para el consumidor, que para los frutos de la familia Cucurbitaceae puede mantenerse hasta tres semanas (Cuadro 6).

**Cuadro 6.** Condiciones y tiempo de almacenamiento recomendadas de algunas cucurbitáceas (Kader, 2002).

Cucurbitácea	Condiciones de almacenamiento		Tiempo de almacenamiento aproximado (semana)
	Temperatura (°C)	Humedad Relativa (%)	
<i>Cucumis sativus</i>	10-12	85-90	2-3
<i>Cucurbita pepo</i>	7-10	95	1-2
<i>Citrullus lanatus</i>	10-15	90	2-3
<i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.	7	85-90	2-3

*Enfermedades postcosecha de las cucurbitáceas:* Las pérdidas económicas por las enfermedades reducen los rendimientos, afectan la calidad y limitan la producción frutas, hortalizas y cultivos de todo tipo, éstas pueden ser causadas por diferentes organismos, tales como los hongos, bacterias, virus, nematodos fitoplásmas y los viroides (Apablaza-Hidalgo, 1999). En pepino se ha reportado a *Botrytis cinerea* como el agente causal de la pudrición en postcosecha y como organismo secundario a *Phoma cucurbitacearum* después de que el fruto presentara daño por frío, además de manifestar antracnosis causado por *Colletotrichum lagenarium* (Doubrava, *et al.*, 1988). En el pepino se reporta que el causante de la pudrición negra es *Alternaria* sp. y *Didymella* sp. para la pudrición algodonosa se ha identificado a *Pythium* sp. y como patógeno causante de la pudrición blanda a *Rhizopus* sp. (Suslow y Cantwell, 2017).

En la sandía, la pudrición negra es causada también por *Didymella bryoniae*, la antracnosis por *Colletotrichum orbiculare*, ambas enfermedades comunes en zonas con lluvia abundante y alta humedad, otros patógenos que son comunes son *Alternaria* sp., *Botrytis* sp., *Cladosporium* sp., *Geotrichum* sp., *Rhizopus* sp. y en ocasiones *Mucor* sp., *Fusarium* sp. y *Tricothecium* sp. El melón, también presenta pudrición en la superficie, causado por los hongos: *Alternaria* sp., *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., *Geotrichum* sp. y *Rhizopus* sp. con diferencias en sintomatología (Suslow, 2017; Suslow *et al.*, 2017).

*Importancia de los empaques en los frutos:* La mejora del empaque es una meta para el desarrollo del mercado y prevención de pérdidas postcosecha. Sin embargo, la perecibilidad de los productos frescos justifica buscar cualquier mejora en materia de empaque, siempre que muestre algún beneficio sobre la calidad de postcosecha y pueda justificarse económicamente (FAO, 1987). Las funciones de los empaques son contener, proteger y conservar al producto hasta su consumo final (Proexport Colombia, 2003).

Malla: La malla de polietileno espumado está diseñada para la protección individual de las frutas, sus características permiten mantener ventilado el producto y evitar su maduración temprana, brindando una presentación agradable en los puntos de venta. También es fácil de manejarse para empacar; es higiénico a diferencia de los corrugados que promueven el

crecimiento de hongos y bacterias (Packagin Prodex, 2004). Este material tiene muchas aplicaciones, pero en general es para productos o frutos de superficie sensible, además de usarse en cristalería botellas y flores. Las ventajas de su uso son:

- Reduce las pérdidas de fruta entre 25-30%
- Da protección y ventilación durante el transporte de la fruta
- Es fácil de manejar y es higiénico
- Mejora la apariencia del producto en los puntos de venta
- Se adapta a la forma de la fruta a empacar

Papel Natural: fabricado a base de celulosa, es usado para empacar frutas frescas; su finalidad es proteger la fruta de la deshidratación conservándola en óptimo estado (Papelmex, 2017).

*El uso de empaques en el chayote*: Las frutas de chayote suelen envolverse individualmente en papel de seda o bolsas de plástico (para reducir la fricción y la pérdida de agua) en pisos de una sola capa. En ocasiones se ha reportado mayor incidencia de enfermedades y deterioro de la calidad en los frutos almacenados en bolsas de polietileno, ya que aumenta la condensación de humedad en la superficie de la fruta (Myers y Mayberry, 1998).

En el país de Costa Rica, el uso de bolsas de polietileno para empacar el chayote individualmente y sin aplicar fungicida, dio como resultado la reducción de la pérdida de peso, pero ha provocado que los frutos desarrollen enfermedades. En México el uso de este empaque sigue vigente a pesar de que sigue generando el desarrollo de enfermedades y el uso de plástico representa un reto al medio ambiente, por lo que es importante plantear algunas alternativas de solución (Alvarado *et al.*, 1988).

## Literatura citada

- Alvarado, Sandra, Sáenz Marco V. y Valverde Edgar 1988. Evaluación de tratamientos poscosecha para la preservación de los frutos de chayote (*Sechium edule*). Agronomía Costarricense. 13(1):35-43.
- Apablaza-Hidalgo G. 1999. Patología de cultivos: epidemiología y control holístico. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago. Chile. 347 p.
- Aung, L. H., Harris, C. Max., Jenner, Joel. F. 2004. Chemical growth regulators on postharvest sprout development of *Sechium edule* Swartz. Phyton 73: 155-164.
- Avendaño-Arrazate, C. H. 2015. Conocimiento y comercialización de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.), en los mercados de Valles Centrales de Oaxaca, México. Revista Brasileira de Agroecología, 9 (3): 100-102.
- Bartz, J.A., and Brecht, J. K. 2003. Postharvest physiology and pathology of vegetables. University of Florida, Gainesville, Florida, U.S.A. 2th edit. ISBN: 0-8247-0687-0
- Bautista-Baños S., Hernández-López M., Guillén-Sánchez D., Alia-Tejacal I. 2006. Influencia del recubrimiento con quitosano y la temperatura de almacenamiento en la calidad poscosecha y niveles de infección en la ciruela mexicana. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha. 7 (2): 114-121.
- Becerra-Zavaleta Joaquín. 2013. Un pariente olvidado en Veracruz: el chayote. Revista Agroentorno. Sección Agricultura. pp. 25, 26.
- Blankenship, Sylvia M., Dole, J. M. 2003. 1-Methylcyclopropene: A Review. Postharvest Biology and Technology. 28 (1): 1-25. Doi: 10.1016/S0925-5214(02)00246-6
- Cadena-Iñiguez J., Arévalo-Galarza M. L. C., Ruiz-Posadas L., Aguirre-Medina J.F., Soto-Hernández M., Luna-Cavazos M., Zavaleta-Mancera H.A. 2006. Quality evaluation and influence of 1-MCP on *Sechium edule* (Jacq.) Sw. fruit during postharvest. Postharvest Biology and Technology 40: 170-176
- Cadena-Iñiguez J., Arévalo-Galarza María L.C., Avendaño-Azarrate C.H., Soto-Hernández Marco, Ruiz-Posadas L.M., Santiago-Osorio E., Acosta-Ramos M., Cisneros-Solano V. M., Aguirre-Medina J.F. Ochoa-Martínez D. 2007. Production, Genetics, Postharvest Management and Pharmacological Characteristics of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. Fresh Produce, Global Science Books 1:41-52.

- Cadena-Iñiguez J., Arévalo-Galarza, M. L.C., Olguín-Hernández G., Morales-Flores F. J., Trejo-Téllez, B. I., Ruiz-Vera V. M. 2016. Biosecurity system for quality and reduction viviparism chayotes export. 20th International Congress on Project Management and Engineering Cartagena, 13-15th July. 947 p.
- Cadena-Iñiguez J., Avendaño-Arrazate, C.H., Arévalo-Galarza, M. L. C., Cisneros-Solano V. M. y Campos, R. E. 2010. El chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw., importante recurso fitogenético mesoamericano. Agroproductividad, 3: 26-34.
- Cadena-Iñiguez J., Ruiz-Posadas L.M., Trejo, L. Sánchez, G., Aguirre-Medina J.F. 2001. Intercambio de gases y relaciones hídricas del chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) . Revista Chapingo Serie Horticultura p. 21.
- Doubrava, N.S., Dean, R.A., and Kuc, J. 1988. Induction of systemic resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum lagenarium* in cucumber by oxalate and extracts from spinach and rhubarb leaves. *Physiol. Mol. Plant Pathology*. 33:69–79.
- FAO.1987. Manual para el mejoramiento del manejo postcosecha de frutas y hortalizas. Parte I: Cosecha y Empaque. Pág. 68.
- Flores M. Eva. 1989. El chayote, *Sechium edule* Swartz (*Cucurbitaceae*). *Revista de Biología Tropical* 37, 1-54 p.
- Galindo-Leal C.2017. Lo hecho en México ¿Y los mexicanos por naturaleza? Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Publicado 12 de agosto de 2016. Consultado 16 abril 2017. Disponible en:<https://www.gob.mx/conabio/articulos/lo-hecho-en-mexico?idiom=es>
- GISeM. 2011. El chayote. Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Estado de México. Volumen 3 pp. 3-9.
- GISeM. 2011. Rescatando y aprovechando los recursos fitogenéticos de Mesoamérica. Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Estado de México. 2: 4 y 22.
- Jensen, L.P., and Lai A.R. 1986. Chayote (*Sechium edule*) causing hypokalemia in pregnancy. *Am. J. Obst. and Gynecology*. 155: 1048-1049.
- Kader, A.A. 1985. Ethylene-induced senescence and physiological disorders in harvested horticultural crops. *HortScience*. 20: 54-57.

- Kader, Adel A. 2002. Postharvest technology of horticultural crops. University of California Agriculture and Natural Resources. 3th Ed. ISBN-13:978-60107-743-1. 535 p.
- León-Cruz Artemio. 1983. ¿Chayote o cruza intergenericas? Hallazgos y características. Universidad Autónoma Chapingo, centro regional Universitario Oriente, Huatusco Veracruz. Pág. 100.
- MAG.1991.Aspectos Técnicos sobre Cuarenta y Cinco Cultivos Agrícolas de Costa Rica. Dirección General de Investigación y Extensión Agrícola. Ministerio de Agricultura y Ganadería. San José, Costa Rica.
- McGlasson, W.B. 1985. Ethylene and fruit ripening. HortScience. 20:51
- Monroy-Vázquez, M. E., Soto-Hernández, M., Cadena-Iñiguez, J., Santiago-Osorio, E., Ruiz-Posadas, L. D. M., & Rosas-Acevedo, H. 2009. Estudio biodirigido de un extracto alcohólico de frutos de *Sechium edule* (Jacq.) Swartz. Agrociencia, 43(8), 777-790.
- Myers, C., Mayberry K. 1998. Specialty and minor crops handbook. Chayote, Mirliton, Vegetable Pear. Vol. 3346. Second edition. UCANR Publications. pp. 37- 38.
- Ortega-Paczka, R; Martínez-Alfaro, MA; Rincon-Enriquez, G.1998. Principales cultivos de México y sus regiones mundiales de mayor diversidad. XVII Congreso de Fitogenética. SOMEFI. Acapulco, México. p. 321.
- Packagin Prodex. 2004. Catálogo de productos: Soluciones de empaque. Consultado 20 de Julio de 2016.[http://www.prodexcr.com/pdf/Brochureempaque\(catalogo\).pdf](http://www.prodexcr.com/pdf/Brochureempaque(catalogo).pdf).
- Papelmex. 2017. Eco empaques alimenticios. Guadalajara Jalisco. Consultado: 26 enero 2017.<http://papelmex.com>
- Proexport Colombia. 2003. Cartilla empaques y embalajes para exportación. Bogotá DC. Pág. 6
- Salama, A. M., Polo A. E., Contreras, C.R. and Maldonado, L. 1986. Análisis fitoquímico preliminar y determinación de las actividades antiinflamatoria y cardíaca de los frutos de *Sechium edule*. Rev. Colombiana Cien. Quím.-Farm. 15: 79- 82
- SIAP.2016. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera: Cierre de la producción agrícola por estado de 2015. Fecha de consulta: 19 abril 2017. Disponible en <http://infosiap.siap.gob.mx>
- SINAREFI. 2015. [http://www.sinarefi.org.mx/redes/red\\_chayote.html#cajaIntro](http://www.sinarefi.org.mx/redes/red_chayote.html#cajaIntro)

- Sistema Producto Chayote. 2012. Plan rector del sistema producto “chayote”. Actualización 2012, consumo mundial. p. 13.
- SIAP.2016. Atlas Agroalimentario 2016. Primera edición. pp 126 y 127.
- SNICS. 2015. Recursos fitogenéticos: usos y producción nacional del chayote. Fecha de consulta: 2 de abril de 2017. <http://snics.sagarpa.gob.mx>
- Suslow, T. V., Cantwell M. 2017. Recommendations for Maintaining Postharvest Quality: Cucumber. Department of Plant Sciences, University of California, Davis. Consultado: 9 mayo de 2017. <http://postharvest.ucdavis.edu>
- Suslow, T. V. 2017. Recommendations for Maintaining Postharvest Quality: Watermelon. Department of Plant Sciences, University of California, Davis. Consultado: 9 de mayo de 2017. <http://postharvest.ucdavis.edu>
- Suslow, T. V., Cantwell M., Mitchell J. 2017. Recommendations for Maintaining Postharvest Quality: Cantaloupe. Department of Plant Sciences, University of California, Davis. Consultado: 9 mayo de 2017. <http://postharvest.ucdavis.edu>
- USDA. 2016. National Nutrient Database for Standard Reference. Consultado el 20 abril 2017. <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/beef/show>
- Valverde, E., Sáenz M. V., Vargas E. 1989. Estudios preliminares para la conservación de la fruta de chayote después de la cosecha. *Agronomía Costarricense*. 13(1): 25-33.
- Vargas, E. 1987. La vejiga del fruto, una nueva enfermedad del chayote (*Sechium edule* L.). Nota técnica *Agronomía Costarricense*. 12(1):123-126
- Vera-Sánchez, K., Cadena-Iñiguez, J., Latournerie-Moreno, L., Santiaguillo- Hernández, J.F., Rodríguez-Contreras, A., Basurto-Pena, F.A., Castro-Lara, D., Rodríguez-Guzmán, E., López- López, P., Ríos-Santos, E. 2016. Conservación y utilización sostenible de las Hortalizas Nativas de México. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas, México. pp. 31.
- Watkins, C. B. 2006. 1-Methylcyclopropene (1-MCP). Department of Horticulture, Cornell University, Ithaca, NY. p 8.
- Wills, R. B., and Golding, J. 2015. Advances in postharvest fruit and vegetable technology. CRC Press. pp. 117-121.

**CAPITULO I. CALIDAD POSTCOSECHA DE FRUTOS DE CHAYOTE (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) var. *nigrum spinosum* ALMACENADOS A BAJA TEMPERATURA**

**1.1 RESUMEN**

El chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) var. *nigrum spinosum* es uno de los dos principales genotipos que se comercializan en México, Estados Unidos, siendo las comunidades latina y asiática sus mayores consumidores. Generalmente los trabajos reportados en esta especie se centran en el genotipo *virens levis*, pero existe muy poca información del comportamiento postcosecha del genotipo *n. spinosum* bajo almacenamiento refrigerado. Para ello se cosecharon frutos en madurez hortícola y se almacenaron a temperatura ambiente ( $20 \pm 2$  °C, 60 % HR) y a baja temperatura ( $10 \pm 1$  °C, 85 % HR) durante tres periodos de tiempo (3, 6 y 9 semanas) con y sin la aplicación de 1-metilciclopropeno (1-MCP) (0, 500 y 1000 nL L<sup>-1</sup>) para reducir el viviparismo. Las variables evaluadas fueron: porcentaje de humedad, acidez titulable, SST (°Brix), contenido de clorofila *a* y *b*, y total, contenido de azúcares totales (sacarosa, fructosa y glucosa), pérdida de peso y porcentaje de viviparismo. Los resultados mostraron un contenido de materia seca entre el 5.1 y 6.1 %, con bajo contenido de SST (4.5-5.2 %) que permanece sin cambios durante el almacenamiento, un contenido de fructosa y glucosa de 1.07 % y 0.89 % respectivamente, sin la presencia de sacarosa. Los frutos mantuvieron sus características de apariencia con el almacenamiento por 3 semanas, pero no a 6 y 9 semanas, aunque las dosis de 1-MCP (500 y 1000 nL L<sup>-1</sup>) redujeron significativamente el viviparismo, incremento la susceptibilidad a la incidencia de hongos principalmente *Fusarium* sp.

**Palabras clave:** viviparismo, espinas, clorofila, deshidratación.

## 1.2 ABSTRACT

Chayote *nigrum spinosum* is one of the two main fruit genotypes that are trade in Mexico, United States of America and Canada, due the increase of Latin and Asiatic consumers. Research in chayote fruit is usually done in *virens levis* genotype, but there is very little information on the post-harvest behavior of genotype *n. spinosum* under cold storage. For this, fruits were harvested in horticultural maturity and stored at room temperature ( $20 \pm 2$  °C) and in refrigeration ( $10 \pm 1$  °C; 85 % RH) for three periods of time (3, 6 and 9 weeks) with and without the application of 1-methylcyclopropene (1-MCP) (0, 500 and 1000 nL L<sup>-1</sup>) to reduce viviparity. The variables evaluated were: moisture, titratable acidity, SST (°Brix), chlorophyll *a* and *b*, and sugar content (sucrose, fructose and glucose), weight loss and viviparity. The results showed a dry material content between 5.1 and 6.1 %, low SST content (4.5-5.2 %) that remains unchanged during storage, fructose and glucose of 1.07 % and 0.89 % respectively, and no sucrose. The fruits maintained their appearance with the storage of 3 weeks, but at 6 and 9 weeks, was evident the dehydration of the spines and the incidence of fungi, mainly *Fusarium* sp. The application of 1-MCP, in 500 and 1000 nL L<sup>-1</sup>, even delayed the presence of viviparity, but increased the susceptibility to disease.

**Key words:** viviparity, spines, chorophyll, dehydration.

### 1.3 INTRODUCCIÓN

El chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) cuyo nombre en náhuatl chayotl significa “calabaza espinosa”, es originario de Mesoamérica y presenta una amplia variación en la forma y color de frutos (SINAREFI, 2015). Este fruto tiene propiedades como diurético y antiinflamatorio, evita calcificaciones renales y arteriosclerosis, lo que reduce los riesgos cardiovasculares (Jensen y Lai, 1986). De la amplia riqueza biológica del chayote, en México se comercializan principalmente dos genotipos: *virens levis* (verde liso) y *nigrum spinosum* (espinoso). Ambos genotipos se exportan a Estados Unidos y Canadá debido a la creciente población latina y asiática (GISeM, 2011).

La vida de anaquel de los frutos se ve limitada por la pérdida de color, deshidratación y presencia de viviparismo (germinación de la semilla al interior del fruto), que es uno de los factores que limita la vida de anaquel y es un motivo de rechazo durante la comercialización de ambos genotipos de fruto. El viviparismo es un fenómeno asociado con la biosíntesis de etileno; para que este regulador del crecimiento actúe tiene que ser reconocido por el receptor, conduciendo la activación transcripcional de los genes que desencadenan diversas respuestas fisiológicas como la germinación (Sisler y Serek, 1997; Blankenship, 2001).

Estudios recientes muestran que la aplicación de 1-MCP (1-metilciclopropeno) previene el reconocimiento del receptor al etileno, pues tiene mayor afinidad, y no puede activar los mecanismos que llevan a los procesos de germinación por lo que tiene cierta efectividad en retrasar el viviparismo. En el caso del chayote *virens levis* al aplicar 300, 600 y 900 nL<sup>-1</sup> de 1-MCP a frutos almacenados durante 28 días a 10 °C, más 6 d a temperatura ambiente, se observó que la dosis de 300 nL L<sup>-1</sup> redujo el viviparismo con solo 5 % frutos con viviparismo, comparados con 50 % de los frutos testigo (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2006). Sin embargo, se desconoce si el 1-MCP puede tener la misma efectividad en los frutos del genotipo *nigrum spinosum*, ya que no existe información al respecto.

Por lo anterior el objetivo del presente estudio fue evaluar y generar información de los efectos del uso de 1-MCP sobre la vida de anaquel y calidad postcosecha bajo almacenamiento de refrigeración del chayote *var.nigrum spinosum*.

## 1.4 MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

Se cosecharon 120 frutos, sanos, sin heridas, en madurez hortícola y sin presencia de viviparismo (Figura 1). La cosecha se realizó en noviembre de 2016, en el Banco Nacional de Germoplasma de *Sechium edule* (BANGeSe), ubicado en el Centro Regional Universitario Oriente (CRUO) que pertenece a la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) en el municipio de Huatusco, Veracruz, México.

La vegetación del lugar es de bosque mesófilo de montaña (1340 m de altitud) y temperatura media anual de 19 °C y 85 % HR, con 2250 mm de precipitación media anual (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2007). Los frutos fueron transportados en cajas de plástico al laboratorio de Postcosecha del Colegio de Postgraduados campus Montecillo.



**Figura 1.1.** A: Cosecha y B: apariencia de frutos chayote *var. nigrum spinosum* provenientes del Banco de Germoplasma de *Sechium edule* (BANGeSe) en Huatusco Veracruz.

Los chayotes (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) var. *nigrum spinosum* se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio (0.1 %) durante 2 minutos, después se dejaron secar a temperatura ambiente durante 3 h. Los frutos se dividieron en 12 lotes de 10 frutos cada uno, considerando cada lote un tratamiento (4 tiempos de almacenamiento: 0 (Temperatura ambiente), 3, 6, 9 semanas (Refrigeración) y 3 dosis de 1-MCP (0, 500 y 100 nL L<sup>-1</sup>). La aplicación de 1-MCP (SmartFresh®; 14 %, Rohm and Haas Co.) se aplicó por exposición durante 6 h a 20 °C, colocando los frutos en un empaque herméticamente cerrado donde se colocó un vial con la concentración determinada de 1-MCP. Posteriormente los frutos se colocaron a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) y bajo refrigeración a 10 ± 1 °C por diferentes periodos de tiempo de acuerdo al tratamiento.

Las variables pérdida de peso y viviparismo se midieron cada dos días sin destruir los frutos, tanto a temperatura ambiente como a la salida de la cámara frigorífica. Mientras que los análisis químicos se realizaron a la salida de la cámara frigorífica y al día 11.

### **Variables evaluadas**

**Porcentaje de humedad:** Se tomó una rodaja de un 1 cm de espesor del centro del chayote, (sin epidermis ni semilla), y se colocó dentro de un horno mecánico de convección (Lab-Line Imperial V, Alpha Multiservises, Inc. USA) a 50 °C durante 8 d, hasta que se obtuvo un peso constante. La humedad se calculó con:

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{\text{peso húmedo} - \text{peso seco}}{\text{peso húmedo}} * 100$$

**Acidez titulable:** Se determinó por el método volumétrico de la AOAC (1990) en 2 g de pulpa licuada en 10 mL de agua destilada. Se tomó una alícuota de 5 mL y se le adicionaron 3 gotas de indicador de fenolftaleína. Posteriormente se tituló con NaOH hasta que cambiara de color. El resultado se expresó como porcentaje de ácido cítrico.

**Determinación de SST (°Brix):** Fue determinado con un refractómetro digital (PAL-1, Atago™, Japón) en cinco frutos en cada periodo de evaluación, para ello se realizaron cortes

en dos áreas de la región ecuatorial de cada fruto a una profundidad de  $\pm 2.5$  cm (mesocarpo), y subsecuentemente se exprimió con una tela.

**Contenido de clorofila:** Se colocaron dos gramos de la pulpa en un vial con tapa, se le adicionaron 10 mL de acetona (80 %) y se almacenaron en condiciones de oscuridad durante 24 h y a temperatura ambiente. Después, el extracto se midió en tres longitudes de onda: 470, 646 y 663 nm en un espectrofotómetro UV (Thermo Scientific™, modelo GENESYS™ 10UV). Para obtener las concentraciones de clorofilas ( $\text{mg g}^{-1}$ ) se aplicó las ecuaciones para el solvente de acetona al 80 % (v/v), según Lichtenthaler (1987):

$$\text{Clorofila a: } C_a = (12.25 * A_{663} - 2.79 * A_{646})$$

$$\text{Clorofila b: } C_b = (21.50 * A_{646} - 5.10 * A_{663})$$

$$\text{Clorofila Total: } C_{a+b} = (7.15 * A_{663} - 18.71 * A_{646})$$

$$\text{Total de carotenoides: } C_{x+c} = \frac{1000 * A_{470} - 1.82 C_a - 85.02 C_b}{198}$$

**Contenido de azúcares totales por HPLC:** Para la muestra madre se colocó en un matraz 5 g de pulpa de chayote finamente picada y se le adicionó 60 mL de etanol al 80 %, cubriéndolo con papel aluminio. Se dejó reposar durante 24 h a temperatura ambiente y posteriormente se concentró a ebullición lenta hasta un volumen de 15 mL. De ésta solución se tomó 1 mL y se realizó el proceso de extracción en fase sólida (SPE, por sus siglas en inglés), para ello se tomó 1 mL de muestra y se pasó a un cartucho de limpieza, previamente acondicionado con 6 mL de metanol, seguidos de 6 mL de agua. El eluato se recuperó en un matraz volumétrico de 5 mL. Se enjuagó el lecho cromatográfico con 3 mL de agua, se juntaron ambos eluatos y se aforó.

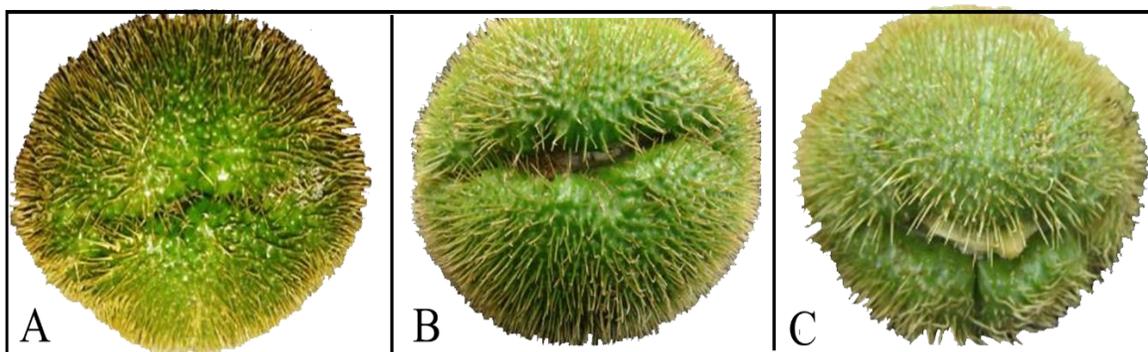
De la solución anterior se filtró un mililitro con un acrodisco (Titan, 0.45  $\mu\text{m}$ ), se colocó en un vial y se analizó por HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) (Series 200, Perkin Elmer™) con automuestreador y detector Índice de Refracción (IR). Se utilizó una columna Pinnacle II Amino de 5 mm 150 x 4.6 mm (Restek™), la fase móvil fue una solución de acetonitrilo/agua (80:20) (v/v) con un tiempo de corrida de 14 min. Se realizaron curvas de calibración en un rango de 0.15 a 5  $\text{mg mL}^{-1}$  de fructosa y glucosa. Las condiciones

del cromatógrafo fueron: temperatura de columna de 35 °C, flujo de 1 mL min<sup>-1</sup>, con un volumen de inyección de 10 µL.

**Pérdida de peso:** Se registró cada dos días el peso de cada chayote que permaneció a temperatura ambiente hasta presentar viviparismo, calculándolo con la siguiente ecuación:

$$\text{Pérdida de Peso (\%)} = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} * 100$$

**Viviparismo:** Cada dos días se registró la presencia de viviparismo de acuerdo con nivel de abertura de la parte basal del fruto (Figura 2) siendo: nivel 0= ausencia de semilla (valor nominal 0), nivel 1: apertura basal del fruto con la semilla visible, (valor nominal 2); nivel 2: semilla expuesta del fruto, (valor nominal 4), con la siguiente formula : % viviparismo =  $((n \times v)/tf) \times 100$  ; donde n= número de frutos, v= nivel de viviparismo; tf= total de frutos en evaluación (Figura 2).



**Figura 1.2.** Clasificación de viviparismo en chayote *nigrum spinosum*. A: Nivel 0 = 0; B: nivel 1= 2; C: nivel 2 = 4.

**Diseño experimental:** Para las variables de calidad (% SST, contenido de clorofila, acidez titulable y porcentaje de humedad), se realizó un diseño experimental factorial 4 x 3 x 2. Los niveles de los factores fueron: semana (0, 3, 6, 9), dosis de 1-MCP (0, 500, 1000) y días de evaluación (1 y 11).

## Modelo

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + M_j + D_k + SM_{ij} + SD_{ik} + MD_{jk} + SMD_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = variable de respuesta proveniente de la i-ésima semana en la j-ésima dosis de 1- MCP en la k-ésimo día

$\mu$  = media general

$S_i$  = Efecto de la i-ésima semana (i= 0, 3, 6,9)

$M_j$  = Efecto del j-esimo dosis de 1- MCP (j= 0, 500,1000)

$D_k$  = Efecto de la i-ésima día (k= 1, 11)

$SM_{ijk}$  = Interacción semana\*dosis de 1- MCP

$SMD_{ijk}$  = Interacción semana\*dosis de 1- MCP\*día

$\varepsilon_{ijk}$  = Error experimental, dónde:  $N(0, \sigma^2)$ .

En el caso de las variables: contenido de azúcares totales, fructosa, glucosa por HPLC se realizó un diseño experimental factorial 4 x 3. Los factores fueron: semanas de almacenamiento y dosis de 1-MCP. Los niveles de los factores fueron: semana (0, 3, 6, 9), dosis de 1-MCP (0, 500, 1000). Para la relación entre las variables de pérdida de peso (%) y viviparismo (%), se realizó un análisis de correlación para obtener el coeficiente de correlación de Pearson ( $\alpha = 0.05$ ). Todos los datos se analizaron con el software estadístico InfoStat (Di-Rienzo *et al.*, 2016).

## 1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una excelente calidad de los frutos de chayote espinoso se aprecia por el color verde oscuro del exocarpio, tamaño uniforme, espinas firmes y ausencia de viviparismo. Estos frutos se distinguen de los *virens levis* por ser más jugosos y en cuya composición destacan de compuesto fenólicos (525 mg 100 g<sup>-1</sup>) y cucurbitacinas (137 mg 100 g<sup>-1</sup>) (Riviello-Flores *et al.*, 2018). De acuerdo con el Cuadro 2, los frutos de *nigrum spinosum* tienen en promedio un contenido de materia seca entre 5.1 y 6.1 %, mostrando una humedad menor en los frutos mantenidos a temperatura ambiente y en aquellos almacenados a nueve semanas y con la

dosis más alta de 1-MCP. Debido a que los frutos de chayote se cosechan en madurez hortícola, no se presentaron cambios significativos en su composición ni por efecto del almacenamiento, con valores de acidez total y de sólidos solubles totales bajos (0.1 % y entre 4 y 5 °Bx) (Cuadro 1). Estos valores son similares a lo reportado en pepino (*Cucumis sativus*) una hortaliza perteneciente a la familia Cucurbitácea cuyos valores se ubican entre 3 y 4 °Bx (Barraza-Álvarez, 2015) (Cuadro 1).

Se puede observar que los contenidos de clorofila *a* y *b* de los frutos *nigrum spinosum* varía de 3.94 a 7.44 mg 100 g<sup>-1</sup>, con mayor concentración de clorofila *b* que clorofila *a*, que explica su color verde, así como su origen de zonas templadas y valles altos.

El cultivo de chayote espinoso predomina en altitudes superiores al bosque mesófilo (1,600 a 2,800 m) en los Estados de Veracruz, Michoacán, Puebla y Estado de México, bajo estas condiciones de altura y entorno, generalmente la concentración de clorofila es mayor a fin de aprovechar mejor la escasa irradiación incidente. Por otro lado, en el caso de los frutos del genotipo *virens levis*, cultivados en lugares de menor altitud, su color es verde-amarillo y con una concentración significativamente menor de clorofila que *nigrum spinosum* (Cadena-Inñiguez *et al.*, 2010; Azcón-Bieto y Talon, 2003) (Cuadro 1).

El contenido de azúcares varió de 1.23 a 3.45 g 100 g<sup>-1</sup> y en promedio de 2.03 g 100 g<sup>-1</sup> siendo el contenido de fructosa un poco mayor que de glucosa 1.07 g 100 g<sup>-1</sup> y 0.89 g 100 g<sup>-1</sup> respectivamente y sin presencia de sacarosa; sin que hubiera diferencias significativas por efecto de tiempo de almacenamiento ni aplicación de 1-MCP.

El contenido de azúcares en las cucurbitáceas es diverso, en caso del melón (*Cucumis melo* L.) genotipo *cantalupensis* el contenido de azúcares totales se reporta entre 4.02 - 10.2 g 100 g<sup>-1</sup> siendo la sacarosa el azúcar de mayor proporción con 4.35 g 100 g<sup>-1</sup>, fructosa 1.95 g 100 g<sup>-1</sup> y glucosa 2.1 g 100 g<sup>-1</sup> (Stepansky *et al.*, 1999), en el caso de la calabacita (*Cucurbita maxima* var. Zapallito (Carr.) Millan) el contenido de azúcares totales es de 4.27 g 100 g<sup>-1</sup> (Massolo *et al.*, 2013).

**Cuadro 1.1.** Contenido de humedad, acidez titulable (% AT), sólidos solubles totales (% SST) y clorofila (mg 100 g<sup>-1</sup>) en *Sechium edule var. nigrum spinosum* bajo diferentes tiempos de almacenamiento y dosis de 1-MCP.

	Nivel	Humedad (%)	AT (%)	SST (°Bx)	C <sub>a</sub> (mg100g <sup>-1</sup> )	C <sub>b</sub> (mg100g <sup>-1</sup> )	
TA	0	93.89 b	0.11 ab	4.46 b	1.47 c	2.06 c	
	3	94.52 a	0.09 c	4.99 a	2.47 bc	3.70 bc	
	6	94.56 a	0.12 a	5.17 a	4.75 a	6.97 a	
SEAL	R	9	94.13 b	0.10 bc	5.14 a	3.14 b	4.58 b
Dosis	0	94.90 a	0.09 b	5.15 a	2.27 b	3.41 a	
	500	93.69 c	0.11a	4.76 b	3.11 ab	4.59 a	
	1000	94.23 b	0.11a	4.90 b	3.49 a	4.98 a	
1-MCP	1	94.24 a	0.11	4.99 a	2.78 a	4.14 a	
	11	94.31 a	0.1	4.89 a	3.13 a	4.52 a	
Semana*1-MCP		*	*	*	*	*	
Semana*dia		*	*	*	*	*	
1-MCP *dia		*	*	ns	ns	ns	
Semana*1-MCP *dia		*	*	*	ns	ns	

SEAL=Semanas de almacenamiento; AT= acidez titulable; TA=Temperatura ambiente a  $20 \pm 2$  °C; R=Refrigeración a 10 °C; DSA= días de muestreo durante simulación en anaquel; 1-MCP=Dosis de 1-MCP; SST=sólidos solubles totales; C<sub>a</sub>=clorofila a; C<sub>b</sub>=clorofila b; C<sub>a+b</sub>=clorofila total; letras iguales para cada factor con sus niveles no son significativamente diferentes; ns, \*=no significativo o significativo, respectivamente, a  $P \leq 0.05$ .

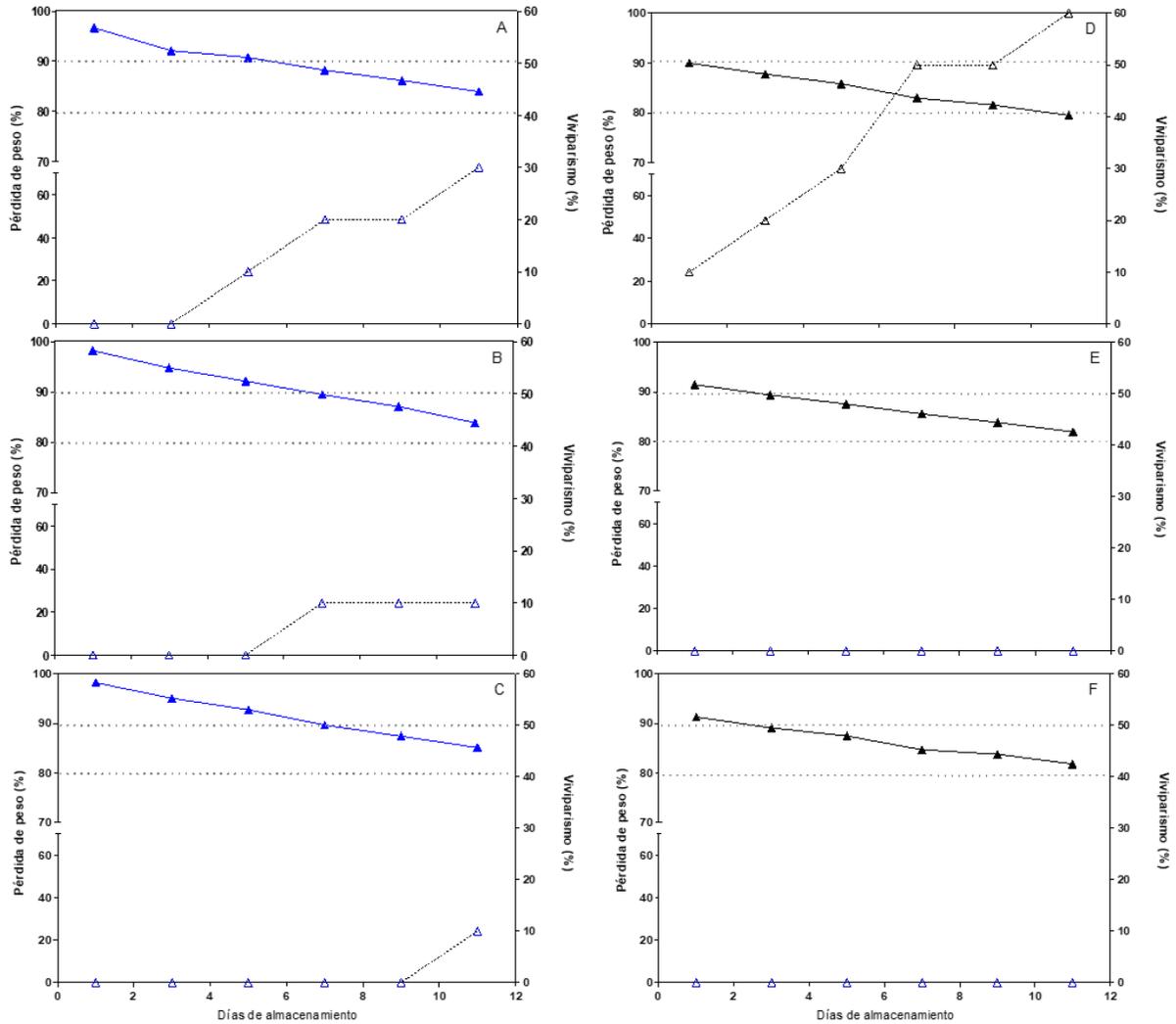
La pérdida de peso registró que los frutos mantenidos a temperatura ambiente perdieron peso similar a los tratados con 500 nL L<sup>-1</sup>, y viviparismo del 30 % y 10 %, respectivamente, mientras que los frutos tratados con 1000 nL L<sup>-1</sup> tuvieron 10 % de viviparismo hasta el día 11 de almacenamiento.

Para el almacenamiento refrigerado, después de 3 semanas los frutos testigo presentaron mayor pérdida de peso (6.1 %), con 60 % de viviparismo, mientras que los frutos tratados con ambas dosis de 1-MCP no presentaron este problema durante los 11 d de almacenamiento (Figura 3).

Aunque este producto se utiliza mayormente para retrasar el proceso de maduración de frutos climatéricos se ha utilizado de forma limitada en productos no climatéricos, con diversas respuestas. Por ejemplo, en fresa (*Fragaria × ananassa*), la aplicación de 1-MCP entre 1-1000 nL L<sup>-1</sup> mantuvo el color y la firmeza (Jiang *et al.*, 2001), en pepino (*Cucumis sativus*) se observó poco o ningún efecto benéfico por la aplicación de 1 MCP a menos que exista el riesgo de que haya etileno presente (Nilsson, 2005).

De forma general el tiempo de almacenamiento límite para mantener la calidad de frutos de *var. nigrum spinosum* fue de tres semanas a  $10 \pm 1$  °C, 85 % HR, ya que para las 6 y 9 semanas de almacenamiento las espinas de los frutos estaban deshidratadas y con severa incidencia de hongos, que se acentuó con los frutos tratados con 1-MCP (Figura 3).

En general se observó una correlación positiva entre la pérdida de peso y viviparismo con 0.819, mientras no hubo una correlación significativa entre las dosis de 1-MCP con viviparismo y pérdida de peso.



**Figura 1.3** Porcentaje de pérdida de peso y viviparismo de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, gráficas A: (0 nL L<sup>-1</sup>, 1-MCP), B: (500 nL L<sup>-1</sup>, 1-MCP) y C: (1000 nL L<sup>-1</sup>, 1-MCP) mantenidos a temperatura ambiente y D (0 nL L<sup>-1</sup>, 1-MCP), E (500 nL L<sup>-1</sup>, 1-MCP) y F (1000 nL L<sup>-1</sup>, 1-MCP) frutos almacenados 3 semanas a 10 °C y mantenidos a temperatura ambiente por 11 días.



**Figura 1.4** Apariencia de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum* almacenados a diferentes tiempos (temperatura ambiente, 3s (tres semanas), 6s (seis semanas) y 9s (nueve semanas) con la aplicación de 1-MCP (0, 500 y 1000 nL L<sup>-1</sup>). Inicial (Día 0); salida del almacenamiento refrigerado (10 °C, 85 % HR) (Día 1) y 11 días después del almacenamiento (Día 11).

## 1.6 CONCLUSIONES

Los frutos de *var. nigrum spinosum* no presentaron cambios significativos en su composición al almacenarlos a temperatura ambiente ( $20 \pm 2$  °C, 60 % HR) y a baja temperatura ( $10 \pm 1$  °C, 85 % HR). Este genotipo tiene mayor contenido de materia seca (5.1 a 6.1 %) que los frutos de *virens levis*; su tiempo de almacenamiento fue de 3 semanas, pero no a 6 y 9 semanas ya que el fruto y la espina presentaron deshidratación y un color verde opaco. Las dosis de 1-MCP (500 y 1000 nL L<sup>-1</sup>) redujeron significativamente el viviparismo pero incrementaron la susceptibilidad a la incidencia de hongos, desarrollando pudrición en el fruto.

## 1.7 LITERATURA CITADA

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Vol. II. Association of Official Analytical Chemist. Washington D.C. pp. 918-919.
- Barraza-Alvarez, F.V. 2015. Calidad morfológica y fisiológica de pepinos cultivados en diferentes concentraciones nutrimentales. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas. 9 (1): 60-71.
- Blankenship, S. 2001. Ethylene effects and benefits of 1-MCP. Perishables Handling Quarterly. University of California. 108: 2-4.
- Cadena-Iñiguez J., Arévalo-Galarza María L.C., Avendaño-Azarrate C.H., Soto-Hernández Marco, Ruiz-Posadas L.M., Santiago-Osorio E., Acosta-Ramos M., Cisneros-Solano V. M., Aguirre-Medina J.F. Ochoa-Martínez D. 2007. Production, Genetics, Postharvest Management and Pharmacological Characteristics of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. Fresh Produce, Global Science Books 1:41-52.
- Cadena-Iñiguez J., Avendaño-Azarrate, C.H., Arévalo-Galarza, M. L. C., Cisneros-Solano V. M. y Campos, R. E. 2010. El chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw., importante recurso fitogenético mesoamericano. Agroproductividad, 3: 26-34.
- Cadena-Iñiguez, J., Arévalo-Galarza, L., Ruiz-Posadas, Lm., Aguirre-Medina, J.f., Soto-Hernández, M., Luna-Cavazos, M., Zavaleta-Mancera, H.A. 2006. Quality evaluation

- and influence of 1-MCP on *Sechium edule* (Jacq.) Sw. fruit during postharvest Postharvest Biology and Technology. 40: 170-176.
- Carvajal F, C Martinez, M Jamilena, D Garrido. 2011. Differential response of zucchini varieties to low storage temperature. Sci. Hort. 130:90-96.
- Di-Rienzo, J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M. Robledo C.W. InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- GISeM. 2011. Rescatando y aprovechando los recursos fitogenéticos de Mesoamérica. Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Estado de México. 2: 4 y 22.
- Jensen L.P., and Lai A.R. 1986. Chayote (*Sechium edule*) causing hypokalemia in pregnancy. Am. J. Obst. and Gynecology. 155: 1048-1049.
- Jiang, Y., Joyce, D.C., Terry, L.A., 2001. 1-Methylcyclopropene treatment affects strawberry fruit decay. Postharvest Biol. Technol. 23: 227–232.
- Lichtenthaler, Harmut K.1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes. Method Enzymology, 148: 350-383.
- Massolo, Juan F., Concellón, Analía, Chaves, Alicia R., Vicente, Ariel R. 2013. Use of 1-methylcyclopropene to complement refrigeration and ameliorate chilling injury symptoms in summer squash. CyTA-Journal of Food, 11(1): 19-26. DOI: 10.1080/19476337.2012.676069
- Minitab Inc. 2018. Minitab® Statistical Software. 2018. [http://: www.minitab.com](http://www.minitab.com).
- Moreno-Velázquez, D., Cruz Romero, W., García Lara, E., Ibañez Martínez, A., Barrios Díaz, J. M., & Barrios Díaz, B. 2013. Cambios fisicoquímicos poscosecha en tres cultivares de pepino con y sin película plástica. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 4(6): 909-920.
- Nilsson, T., 2005. Effects of ethylene and 1-MCP on ripening and senescence of European seedless cucumbers. Postharvest Biol. Technol. 36: 113–125.
- SINAREFI. 2015. Consultado en abril 2017. [http://www.sinarefi.org.mx/redes/red\\_chayote.html#cajaIntro](http://www.sinarefi.org.mx/redes/red_chayote.html#cajaIntro)
- Sisler, E. C. and Serek, M. 1997. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: Recent developments. Physiol. Plant. 100 (3): 577-582.

- Stepansky, A., Kovalski, I., Schaffer, A. A., & Perl-Treves, R. 1999. Variation in sugar levels and invertase activity in mature fruit representing a broad spectrum of *Cucumis melo* genotypes. *Genetic Resources and Crop Evolution* 46 (1): 53-62.
- Watkins, C.B. 2006. The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. *Biotechnol Adv.* 24 (4): 389-409. doi:10.1016/j.biotechadv.2006.01.005

## **CAPITULO II. *Fusarium incarnatum* CAUSANTE DE LA PUDRICIÓN EN CHAYOTE (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) var. *nigrum spinosum***

### **2.1. RESUMEN**

El chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) es susceptible a daños mecánicos y enfermedades postcosecha. En el caso de la var. *nigrum spinosum* se desconoce de las enfermedades postcosecha y sus agentes causales, y en consecuencia se desconocen los métodos de prevención para evitar las pérdidas postcosecha durante la comercialización. Se ha reportado el género *Fusarium* sp. como causante de enfermedades en cucurbitáceas y en particular de la *Sechium edule* var. *virens levis* provoca la pudrición de raíces, tallos y frutos. En 2016, frutos de chayote *nigrum spinosum* cosechados de BANGESe, presentaron pudrición después de ser almacenados a temperatura ambiente y en refrigeración durante 2 y 4 semanas, a lo que se procedió a caracterizar morfológicamente e identificar molecularmente (Factor de Elongación) el agente causal de este síntoma. Se aisló y purificó el hongo en el medio del cultivo Papa Dextrosa Agar y antibiótico. Los resultados mostraron que *Fusarium incarnatum* es el agente causal de la pudrición del chayote *nigrum spinosum*.

**Palabras clave:** enfermedades postcosecha, *Fusarium* sp., Almacenamiento refrigerado, BANGESe

## 2.2.ABSTRACT

The chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) is susceptible to mechanical damage and post-harvest diseases. In the case of var. *var. nigrum spinosum* post-harvest diseases and their causal agents are not known, and methods of prevention to avoid post-harvest losses during commercialization are unknown. The genus *Fusarium* sp. has been reported as a cause of cucurbitaceous diseases and in particular of the *Sechium edule* var. *virens levis* causes the rotting of roots, stems and fruits. In 2016, fruits of chayote var. *nigrum spinosum* harvested from BANGESE, presented decay after being stored at room temperature and in cold storage for 2 and 4 weeks, which proceeded to morphologically characterize and molecularly identify (Elongation Factor) the causal agent of this symptom. The fungus was isolated and purified in the culture medium Papa Dextrose Agar and antibiotic. The results showed that *Fusarium incarnatum* is the causal agent of the rot of the chayote *nigrum spinosum*.

**Key words:** postharvest diseases, *Fusarium* sp., cold storage, BANGESE

## 2.3 INTRODUCCIÓN

El chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.), presenta amplia variación en forma y color de frutos y la importancia económica de cada variedad de chayote se basa en la preferencia local (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2016), por ello sobresalen los genotipos *var. virens levis* y *var. nigrum spinosum*.

Romero-Velázquez *et al.* (2015) reportan que la *var. virens levis* es susceptible a daños postcosecha y transporte debido a la fricción o roce, compresión e impacto, lo que facilita el ataque de hongos y en consecuencia el rechazo en el mercado. Cadena-Iñiguez *et al.* (2016) mencionan que la calidad del chayote para exportación depende de su apariencia física: color, incidencia de enfermedades y viviparismo, y si llegan a presentarse en el fruto le darían una apariencia desagradable por lo que reduce tanto su vida de anaquel y precio en el mercado destino.

Los hongos del género *Fusarium* sp. son considerados como hongos de campo (Sumalan *et al.*, 2013) que causan numerosas enfermedades en cultivos, sus daños desatan en el hospedante una serie de afecciones que generalmente son irreversibles, ocasionando inmensas pérdidas económicas (García *et al.*, 2007). Este género también se ha reportado en cucurbitáceas, y Alymanesh *et al.* (2009) mencionan que el síntoma por pudrición de raíz en cucurbitáceas aumentó significativamente en incidencia y severidad en los últimos años, y son un factor limitante de rendimiento en las producciones intensivas de cucurbitáceas, principalmente en pepino (*Cucumis sativus*), sandía (*Citrullus lunatus*) y melón dulce (*Cucumis melo*), lo que resulta en muerte súbita y destrucción completa de estas plantas.

La marchitez vascular en melón es causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, *Fusarium proliferatum* y *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* causando la pudrición de la corona y raíz en calabaza de verano, melón y la pudrición en los frutos de calabaza (Pivonia *et al.*, 1997; Namiki *et al.*, 1994).

Las enfermedades fungosas en frutos de chayote *var. virens levis* identificadas en México con relación al género *Fusarium* sp. las reportan Romero-Velázquez *et al.* (2015), identificando a *Fusarium oxysporum*, que se caracterizaba por producir micelio blanco en la parte basal y media del fruto, con una pudrición blanda alrededor de coloración amarilla y a *Fusarium solani* con pudrición blanda amarilla y micelio blanco en la parte media y basal del fruto.

Además Olguín-Hernández *et al.* (2011) reportan a *Fusarium oxysporum* y a *Fusarium sambucinum* asociados a la pudrición de raíz y guías basales, síntomas conocidos como “agriamiento”, presentando marchitamiento inicial en la planta, generando necrosis en los haces vasculares y al desarrollarse la enfermedad provocan: aborto de flor, cese del desarrollo del fruto y marchitamiento general o amarillamiento del follaje (Olguín-Hernández *et al.*, 2017).

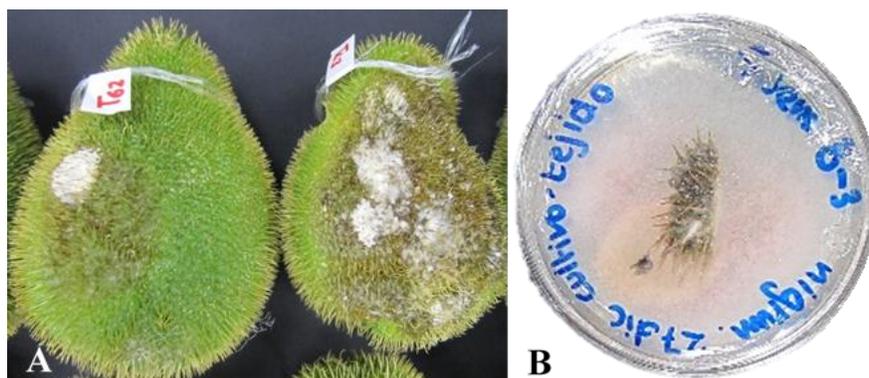
El proceso infectivo de los hongos inicia al adherirse al hospedero, germinar, penetrar el tejido del hospedero, reproducirse dentro del mismo, para finalmente invadir y lograr fortalecerse ante los mecanismos de defensa de éste (Gauthier y Keller, 2013). Se ha reportado que *Fusarium oxysporum* puede sobrevivir largos periodos de tiempo en el suelo, en forma de clamidosporas o como saprófito (Prieto *et al.*, 2003) una vez que encuentra un hospedero, este patógeno se adhiere a la superficie de la raíz, la hifa penetra al tejido, invade el tejido degradándolo hasta su adaptación produciendo micotoxinas y enzimas líticas para favorecer su desarrollo, y al colonizar la planta, el patógeno se extiende rápidamente a través de los vasos del xilema, lo que genera los síntomas de marchitez en raíz y tallo en las plantas (Prieto *et al.*, 2003; Roncero *et al.*, 2000). En síntesis, este patógeno penetra al hospedero a través de las raíces y después invade su sistema vascular.

No existen reportes que identifique el agente causal de la pudrición en el chayote espinoso, por lo que el objetivo de este estudio fue caracterizar e identificar el agente causal de este síntoma en chayote *nigrum spinosum* proveniente de Huatusco, Veracruz.

## 2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

Los frutos se cosecharon en el Banco Nacional de Germoplasma de *Sechium edule* (BANGESE), ubicado en el Centro Regional Universitario Oriente (CRUO) que pertenece a la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) en el municipio de Huatusco, Veracruz, México (19°08'48' latitud norte y 97°57'00" latitud oeste). La vegetación es de bosque mesófilo de montaña (1340 m de altitud) y temperatura media anual de 19 °C y 85 % HR, con 2250 mm de precipitación media anual (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2007). Los frutos fueron transportados en cajas de plástico hasta el laboratorio de Postcosecha de Laboratorios Generales del Colegio de Postgraduados campus Montecillo, después del almacenamiento refrigerado, por 6 y 9 semanas (10 ± 1 °C, 85 % HR) se realizó una selección de frutos de chayote *nigrum spinosum* con síntoma de pudrición.



**Figura 2.1.** A: Chayote *nigrum spinosum* con síntoma de pudrición en la epidermis del fruto. B: Corte de tejido colocado en cámara húmeda

### Aislamiento de hongos

Se seleccionaron cuatro frutos con síntoma de pudrición, en cada uno de ellos se realizaron dos cortes del síntoma; los cortes fueron realizados en la zona de avance de la lesión de aproximadamente 5 mm de diámetro. Se desinfectaron en hipoclorito de sodio (1.5 %) durante 2 min y se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril; después se eliminó el exceso de agua con un papel absorbente estéril. Posteriormente se colocaron dos tejidos por

cada caja Petri de 90 mm con medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) y antibiótico (K4000 Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, sulfato de kanamicina de *Streptomyces kanamyceticus*).

Las cajas Petri se sellaron con plástico (PVC Film) y se etiquetaron e incubaron por 7 d en luz blanca a 25 °C ± 2 en condiciones de laboratorio, donde se monitoreó su crecimiento diariamente. Se realizaron resiembras sucesivas con PDA para purificar los hongos desarrollados. La purificación de aislamientos se realizó por punta de hifa.

De las colonias purificadas a partir de los cortes de tejido solo se seleccionaron dos colonias de hongos que se observaron más uniformes en color y micelio, se purificaron mediante la técnica de corte de punta de hifa y sembraron en tres cajas Petri de 90 mm con medio de cultivo PDA. A partir de los aislamientos desarrollados en PDA, se tomaron 25 discos de 5 mm para depositarlas en 6 tubos Eppendorf (2 mL) con glicerol (20 %) para su conservación en refrigeración a -2 °C hasta su uso.

### **Caracterización morfológica**

La caracterización morfológica del hongo se realizó a partir de cajas Petri, registrando la pigmentación del micelio al reverso y centro de la colonia, forma de la colonia, tamaño y forma de conidios. Esto se realizó en un microscopio compuesto (Olimpus VX 41) con cámara Olympus U-CMAD3 T2, U-TV1X-2 T2 (Tokio, Japón) con una magnificación de 40X, y con la ayuda del programa I IMAGENJ Windows 64 (Schindeli *et al.*, 2015) se midieron las dimensiones de los conidios en preparaciones en portaobjetos, adicionando una gota de glicerol (50 %) y cubreobjetos. La forma de los conidios se determinó con base en lo establecido por Leslie y Summerell (2006).

### **Pruebas de patogenicidad**

Por cada colonia preservada (dos colonias) se reactivaron y sembraron 10 cajas Petri (90 mm) con medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar). Después de 7 d de crecimiento en caja, se cortaron seis discos (5 mm) de una caja Petri (por cada colonia reactivada) y las siete cajas restantes (de cada colonia) se raspó el micelio de cada caja con ayuda de una espátula estéril y este se transfirió inmediatamente a un aspersor con un agente adherente (Tween 20<sup>®</sup> 2

gotas/L de agua) y 10 mL de agua estéril, obteniendo una concentración de  $1 \times 10^6$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ . Se seleccionaron chayotes espinosos sanos con madurez hortícola (18 a 20 días de edad) procedentes del Banco Nacional de Germoplasma de *Sechium edule* (BANGESE) y se desinfectaron en hipoclorito de sodio al 1 % durante 5 min, se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril y después reposaron sobre papel absorbente estéril para eliminar el excedente de agua.

Posteriormente ocho frutos fueron colocados en cámara húmeda como testigos asperjados con agua destilada estéril (dos frutos por cámara) haciendo un total de 24 frutos. A cada fruto se le aplicó una aspersión a punto de goteo (1 mL por fruto) a una distancia de 10 cm cerca del pedúnculo y la parte media y el otro chayote se colocó un disco de micelio sin realizar alguna herida, después se cerró la bolsa con una liga (Figura 2).

Los frutos que presentaron síntoma de pudrición se les raspó el micelio tomándolo como muestra y se colocó en un portaobjetos con una gota de glicerol (50 %) para su observación al microscopio compuesto. Posteriormente se realizó un raspado para sembrarlo en cajas Petri con PDA durante 7 d para su crecimiento, después siguiendo el mismo procedimiento se colocó en un portaobjetos con una gota de glicerol (50 %) para su observación al microscopio compuesto.



**Figura 2.2.** Frutos de *Sechium edule* (Jacq.) Sw var. *nigrum spinosum* dentro de cámaras húmedas para pruebas de patogenicidad. A: Testigo asperjado con agua destilada y B: Inoculación del fruto con suspensión de conidios y discos del hongo aislado.

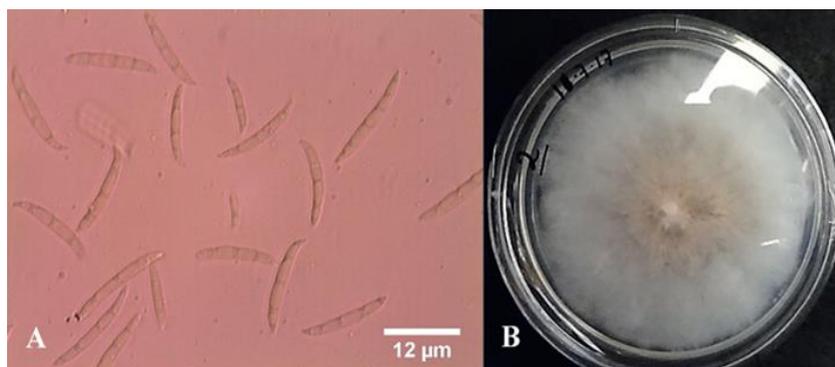
### Identificación molecular

Se enviaron dos colonias purificadas con crecimiento de 6 d de edad en caja Petri (90 mm) al Laboratorio de Diagnóstico Integral Fitosanitario (LADIFIT) del Colegio de Postgraduados para la extracción de ADN y su secuenciación. Al obtener las secuencias, se limpiaron en el programa MEGA7 y luego se compararon con las disponibles en el GenBank con el uso de la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Too).

## 2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Aislamiento e identificación de hongos

Las dos colonias presentaron una forma circular, la pigmentación de micelio en la parte central es rosado (o naranja pálido o salmón) tanto en la parte superior como inferior con micelio de color blanco de apariencia algodonosa alrededor y sin anillo pronunciado, y un diámetro promedio de 66.01 mm con un mínimo y máximo de 53.46 - 73.62 mm. Los macroconidios fueron hialinos (transparentes), ligeramente curvados, de pared delgada con dimensiones promedio 23.97 x 2.97  $\mu\text{m}$ , con una longitud mínima y máxima de 4.29 x 31.93 y ancho de 1.84 x 17.65  $\mu\text{m}$ , también presentaron de cuatro a cinco septas transversales alargados con el ápice puntiagudo o cónico (Figura 3). No se observó la presencia de microconidios, estas características coinciden con lo descrito por Leslie y Summerell (2006) y Nelson *et al.*, (1983).



**Figura 2.3.** A: Macroconidios de *Fusarium incarnatum* (magnificación 40 X); y B: Colonia aislada y purificada del síntoma de pudrición en frutos de *Sechium edule* (Jacq.) Sw *var. nigrum spinosum* en vista superior.

Autores como Ramdial *et al.* (2016) reportan a *Fusarium incarnatum* atacando a pimiento (*Capsicum annuum* L.), y como medio de cultivo usaron agar de hoja de clavel. El micelio lo describen como aéreo y denso de color blanco, y con coloración salmón en el centro y reverso, los macroconidios fueron de cuatro a cinco septas, curvados y cónicas en el ápice, con dimensiones promedio de 28 a 31 x 3 a 5  $\mu\text{m}$ . Este mismo patógeno y hospedero se reportó en Pakistán (Tariq *et al.*, 2018) describiendo la incidencia del síntoma de pudrición interna en el pimiento como lesiones necróticas cerca del cáliz con crecimiento de micelio blanco, el cual se aisló en PDA y agar de hoja de clavel (CLA) y desarrolló colonias con micelio blanco esponjoso con color crema a beige, con macroconidios de tres a cinco septas, cilíndricos, ligeramente curvados, cónicos en el ápice, y de 26.2 a 37.4 x 3.5 a 4.8  $\mu\text{m}$ , con una media de 32.5 x 4.2  $\mu\text{m}$ .

En la India, Singh *et al.* (2011) reportaron que el agente causal del tejido necrótico de los tallos de plantas de nuez a *Fusarium incarnatum*, y que en medio de PDA (durante 7 días a 25  $\pm$  2 ° C) la colonia desarrolló micelio de color blanco pálido con tendencia a rosa en el centro, los macroconidios fueron de forma recta a ligeramente curvada, con cuatro a ocho septas y con dimensiones de 30 a 35 x 3.5 a 5.7  $\mu\text{m}$ .

En China, Gai *et al.* 2016 reportaron que el agente causal de la pudrición del tallo en el maíz (*Zea mays*) fue *Fusarium incarnatum*, describiendo características similares a los anteriores casos, aislado en PDA y agar de hoja de clavel, presentando micelio algodonoso blanco a amarillento, con macroconidios ligeramente curvados, principalmente de 3 a 5 septas, con una célula apical afilada, con dimensiones de 36.5  $\pm$  5.5  $\mu\text{m}$  x 4.5  $\pm$  0.8  $\mu\text{m}$  de largo por ancho respectivamente.

### **Identificación molecular**

Las secuencias de los aislados se amplificaron por la región parcial de Factor de elongación (EF-1 $\alpha$ ), generaron un fragmento de 567 pares de bases (pb). El análisis BLAST mostró un porcentaje de similitud de 99% con las secuencias depositadas en GenBank para *Fusarium equiseti*, sin embargo se tomó en cuenta que éste hongo pertenece a una de las 28 especies del Complejo *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) y al no contar con la amplificación de

otro primer específico para *Fusarium* sp. tal como: RPB1 y 2 , la calmodulina (CAM) y la  $\beta$ -tubulina (O'Donnell,2009) para identificar la especie precisa, se tomó en cuenta la morfología del macroconidio correspondiendo a *Fusarium incarnatum* (Leslie y Summerell, 2006; Nelson *et al.*, 1983); con ello las dos secuencias de chayote espinoso *var. nigrum spinosum* fueron depositadas en GenBank con las claves de acceso: MH633498 y MH633499, ambas como *Fusarium incarnatum*.

Es importante mencionar que este complejo es aún tema de discusión, ya que los métodos y las pruebas para determinar las especies dentro de éste siguen cambiando y afinándose para obtener resultados más acertados y lograr diferenciarlos por su secuenciación.

### Pruebas de patogenicidad

El experimento inicio el 1 de septiembre de 2017, el día 8 se observó un leve crecimiento de micelio sobre la superficie de los frutos con disco y con suspensión, pero se suscitaron los sismos del 8 y el 19 de septiembre, por lo que el Laboratorio se mantuvo cerrado hasta el 2 de octubre, (habían pasado 23 días desde la última observación) y para ese día los frutos ya tenían entre 48 y 50 días de edad y se observó el síntoma de pudrición severo en todos los chayotes *nigrum spinosum*, con excepción de los frutos testigo (Figura 4). Por lo anterior se desconoce con precisión cuantos días transcurrieron después de la inoculación para que los chayotes presentaran el síntoma de pudrición.



**Figura 2.4.** Síntoma de pudrición en frutos de *Sechium edule* (Jacq.) Sw *var. nigrum spinosum* causado por *Fusarium incarnatum* después de 30 d de la inoculación. A: testigo y B: Frutos inoculados con suspensión y disco presentaron los síntomas.

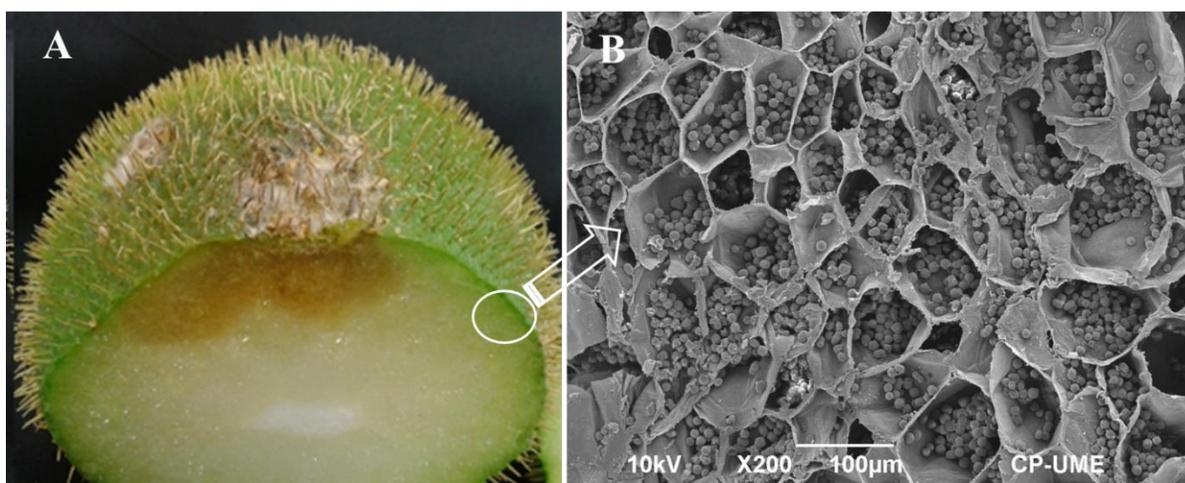
Para comprobar se tomó micelio de los frutos con síntoma y se sembró en cajas de Petri, de los cuales todos desarrollaron macroconidios a los 7 días, además se colocó micelio sobre un portaobjeto con una gota de glicerol (50 %) y un cubre objeto, observando en el microscopio que habían desarrollado macroconidios. El micelio a los 8 d de la inoculación creció y se esparció entre las espigas del chayote, el síntoma de pudrición en el chayote *nigrum spinosum* provocado por *Fusarium incarnatum* después de 30 d de ser inoculado se caracterizó por desarrollar micelio de color blanco a crema con apariencia algodonosa, que cubrió el fruto casi en su totalidad, además de presentar la pudrición en la parte media del fruto y cerca del pedúnculo, presenta hundimiento de tejido y leve presencia de líquido (tejido acuoso), concentrándose un color negro en la zona afectada aparte de tener encima el micelio blanco-cremoso.

Los hongos patógenos desarrollan mecanismos que le permiten acceder al hospedero y traspasar barreras estructurales, tales como la pared celular, y en el caso del género *Fusarium* secreta enzimas capaces de degradar la pared celular (CWDE) tales como: celulasas, hemicelulasas, xilanasas, pectinasas y proteasas, entre otras y que actúan en la despolimerización de cada uno de los componentes de la pared celular: celulosa, hemicelulosa, xilano, pectinas y ácidos galacturónicos. Además, estos complejos colaboran con procesos de penetración y ramificación dentro del tejido del hospedero, permitiendo la liberación de nutrientes e interfieren con la respuesta de defensa de la planta. (Di Pietro and González, 2004; Roncero *et al.*, 2000).

Valencia-Guerrero, *et al.* (2011) reportan a Agrios (2005) y a Norkrans (1963) que la actividad enzimática celulolítica de *Fusarium oxysporum* le permite establecerse en la superficie de la planta hospedero, que en su mayoría está constituida de celulosa y con ello desintegra los componentes de la pared celular dando como resultado el ablandamiento de los tejidos permitiendo la penetración y propagación del patógeno hasta colapsar y desintegrar la pared celular del hospedero.

Chary y Reddy (1985) reportan que *Fusarium oxysporum* y *F. scirpi* producen la pudrición en tubérculos de papa (*Solanum tuberosum*), debido a la alta producción de  $\alpha$ -amilasas. Lo

anterior puede explicar que chayote *var. nigrum spinosum* al realizar un corte transversal al fruto con el síntoma de pudrición es notable el hundimiento de la superficie infectada y la penetración de la enfermedad en él, un cambio de color en la pulpa a diferencia al tejido sano (Figura 5A), además al observar el corte transversal de la epidermis de chayote, se observa una gran cantidad de gránulos de almidón, lo que explica la velocidad y severidad con la que ataca el patógeno.



**Figura 2.5.** A) Corte transversal de frutos de *Sechium edule* (Jacq.) Sw *var. nigrum spinosum* con síntoma de pudrición causado por *Fusarium incarnatum*. B) Micrografía de barrido de corte de epidermis de chayote verde espinoso, con gran cantidad de gránulos de almidón (10 kV; X 200).

## 2.6 CONCLUSIONES

Se identificó a *Fusarium incarnatum* como el hongo causante de la pudrición en los frutos de chayote *nigrum spinosum*. Hasta el momento *Fusarium* sp. se ha reportado como agente causal de varias enfermedades en cucurbitáceas, pero aún no se menciona específicamente a *Fusarium incarnatum*, sin embargo *Fusarium* sp. tiene la característica de ser un parásito facultativo, es decir que tiene la habilidad para vivir sin parasitar un hospedero, pero bajo determinadas condiciones pasan de su estado de saprofito a parásito, lo que le atribuye la ventaja de atacar a varios hospederos, es notable la velocidad de infección y pudrición del

tejido, por lo que es recomendable que los chayotes *nigrum spinosum* se cosechen en estado sazón, es decir con las espinas duras, debido a que tienen mayor resistencia al ataque de los patógenos. Por lo anterior es importante la aplicación de tratamientos que eviten la infección del hongo y mejorar las prácticas postcosecha que reduzcan su posible incidencia sobre el fruto.

## 2.7 LITERATURA CITADA

- Agrios G. 2005. Plant Pathology. 5th edition. Amsterdam: Elsevier Academic Press.
- Alymanesh, M.R., Falahatirastegar, M., Jafarpour, B., Mahdikhanimoghadam, E., 2009. Genetic diversity in the fungus *Fusarium solani* f. sp. cucurbitae race 1, the causal agent of root and crown rot of cucurbits in Iran, using molecular markers. Pakistan Journal of Biology. Science. 12: 836–843. ISSN 1028 -8880.
- Cadena-Iñiguez J., Arévalo-Galarza María L.C., Avendaño-Azarrate C.H., Soto-Hernández Marco, Ruiz-Posadas L.M., Santiago-Osorio E., Acosta-Ramos M., Cisneros-Solano V. M., Aguirre-Medina J.F. Ochoa-Martínez D. 2007. Production, Genetics, Postharvest Management and Pharmacological Characteristics of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. Fresh Produce, Global Science Books 1:41-52.
- Cadena-Iñiguez J., Arévalo-Galarza, Ma. Lourdes Catalina, Olguín-Hernández Gildardo, Morales-Flores Francisco Javier, Trejo-Tellez Brenda Inocencia, Ruiz-Vera Víctor Manuel. 2016. Biosecurity system for quality and reduction viviparism chayotes export. 20th International Congress on Project Management and Engineering Cartagena, 13-15th July. 947 p.
- Chary, S. J., Reddy, S.M. 1985. Starch-Degrading Enzymes of Two Species of *Fusarium*. Folia Microbiol. 30: 452-457.
- Coto, G. R. 2007. Conceptos introductorios a la fitopatología. Editorial Universidad Estatal a Distancia, San José, Costa Rica. Primera reimpresión de la primera edición. 308 p.
- Gai, X. T., Yang, R. X., Pan, X. J., Yuan, Y., Wang, S. N., Liang, B. B., & Gao, Z. G. 2016. First Report of *Fusarium incarnatum* Causing Stalk Rot on Maize in China. Plant Disease, 100(5): 1010. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-15-0766-PDN>

- García, J. M. D., Shagarodsky, T., Fresneda, J. A., Fundora, Y. H., González, J. 2007. Caracterización de especies del género *Fusarium* en el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum*) en las provincias ciudad Habana y La Habana. *Temas de Ciencia y Tecnología* 32 (11): 63-66.
- Gauthier, G.M., Keller, N.P. 2013. Crossover fungal pathogens: the biology and pathogenesis of fungi capable of crossing kingdoms to infect plants and humans. *Fungal Genetics and Biology: FG & B*, 61: 146-57.
- Leslie, J.F., Summerell, B. A. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. 1st Edition Blackwell Publishing., Oxford, UK. 388 p.
- Namiki, F., Shiomi, T., Kayamura, T., Tsuge, T., 1994. Characterization of the formae speciales of *Fusarium oxysporum* causing wilts of cucurbits by DNA fingerprinting with nuclear repetitive DNA sequences. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 2684–2691.
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A., and Mar, W. F. O. as. 1983. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press, University Park, PA, 193.
- Norkrans B.1963. Degradation of Cellulose. *Annual Reviews.* 1: 323-50
- O'Donnell, K., Sutton, D. A., Rinaldi, M. G., Gueidan, C., Crous, P. W., Geiser, D. M. 2009. Novel multilocus sequence typing scheme reveals high genetic diversity of human pathogenic members of the *Fusarium incarnatum-F. equiseti* and *F. chlamydosporum* species complexes within the United States. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(12), 3851-3861. DOI: 10.1128/JCM.01616-09
- Olguín-Hernández Gildardo, Cadena-Iñiguez Jorge, Arévalo-Galarza, María de Lourdes C., Valdez-Carrasco Jorge, Rosas-Saito Greta Hanako, Tlapal-Bolaños Bertha.2017. Organismos Asociados al Chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw., en México. Colegio de Postgraduados. 1a edición. México. ISBN:978-607-715-340-5.
- Olguín-Hernández Gildardo, Cisneros-Solano V.M. y Acosta-Ramos M. 2011. Hongos asociados a síntomas de enfermedades en chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) y estrategias de manejo. *Revista Agroproductividad* 4 (3): 16-23. ISSN-0188-7394
- Pietro, A. D., Madrid, M. P., Caracuel, Z., Delgado-Jarana, J., Roncero, M. I. G. 2003. *Fusarium oxysporum*: Exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus. *Molecular Plant Pathology*, 4(5): 315-325.

- Pivonia, S., Cohen, R., Kafkafi, U., Ben Ze'ev, I.S., Katan, J. 1997. Sudden wilt of melons in southern Israel: fungal agents and relationship with plant development. *Plant Dis.* 81:1264–1268.
- Ramdial, H., Hosein, F., Rampersad, S. N. 2016. First report of *Fusarium incarnatum* associated with fruit disease of bell peppers in Trinidad. *Plant Disease.* 100 (2): 526-526. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-15-0550-PDN>
- Romero-Velázquez, Siul D., Tlapal-Bolaños, B., Cadena-Iñiguez, J., Nieto-Ángel, D., Arévalo-Galarza, M.L. 2015. Hongos causantes de enfermedades postcosecha en chayote (*Sechium edule* (Jacq.) SW.) y su control *in vitro*. *Agronomía Costarricense* 39(2): 19-32.
- Roncero M. I.G., Pietro A. D., Ruiz-Roldán M. C., Huertas-González M. D., García-Maceira F. I., Méglecz E., Jiménez, A., Caracuel Z., Sancho-Zapatero R., Hera, C., Gómez-Gómez E., Ruiz-Rubio M., González-Verdejo C. I. y Páez M. J. 2000. Role of cell wall-degrading enzymes in pathogenicity of *Fusarium oxysporum*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 17: S47-S53.
- Singh, B., Kalha, C. S., Razdan, V. K., & Verma, V. S. 2011. First report of walnut canker caused by *Fusarium incarnatum* from India. *Plant Disease.* 95 (12): 1587-1587. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-11-0352>
- Sumalan, R. M.; Alexa, E., y Poiana, M. A. 2013. Assessment of inhibitory potential of essential oils on natural mycoflora and *Fusarium* mycotoxins production in wheat. *Chemistry Central Journal.* 7(1): 1-12.
- Tariq, A., Naz, F., Altaf, R., Jabeen, Z., Rauf, C. A., Irshad, G. Bennett, J. W. Muhammad Usman Raja, Farid Asif Shaheen, Muhammad Aslam, Tasavar Sultana, Joan W Bennett, and Ning Zhang. 2018. First Report of Fruit Rot of Bell Pepper Caused by *Fusarium incarnatum* in Pakistan. *Plant Disease.* <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-18-0221-PDN>
- Valencia-Guerrero, M., Quevedo-Hidalgo, B., & Franco-Correa, M., Díez-Ortega, H., Parra-Giraldo, C., Rodríguez-Bocanegra, M. 2011. Evaluación de actividades enzimáticas de *Fusarium* spp., aislados de lesiones en humanos, animales y plantas. *Universitas Scientiarum.* 16 (2): 147-159. Editorial Pontificia Universidad Javeriana. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49921209004>

## CAPITULO III. EMPAQUE Y ALMACENAMIENTO DE FRUTOS DE CHAYOTE

(*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) var. *virens levis*

### 3.1. RESUMEN

El principal genotipo del chayote que se comercializa en México y se exporta a Estados Unidos y Canadá es *Sechium edule* (Jacq.) Sw. var. *virens levis*, esto genera que se busque innovar en la aplicación de tratamientos para prolongar la vida de anaquel y mantener la calidad. Los principales problemas de éste genotipo son: la deshidratación, viviparismo y enfermedades postcosecha. Actualmente aún es insuficiente la información sobre el comportamiento postcosecha de este fruto bajo almacenamiento refrigerado y temperatura ambiente; y los beneficios relacionados con el uso de la bolsa de plástico para empacar el fruto porqué a pesar de las condiciones que genera alrededor del fruto, no se ha reemplazado. Por lo anterior es que se cosecharon frutos en madurez hortícola ( $18 \pm 2$  d) y se almacenaron a temperatura ambiente ( $20 \pm 2$  °C, 60 % HR) y a baja temperatura ( $10 \pm 1$  °C, 85 % HR) durante dos periodos de tiempo (2 y 4 semanas) con y sin la aplicación de 1-metilciclopropeno (1-MCP) (0 y 500 nL L<sup>-1</sup>) para reducir el viviparismo. Las variables evaluadas fueron: porcentaje de humedad, acidez titulable, SST (°Brix), contenido de clorofila *a* y *b*, y clorofila total, color, contenido de azúcares totales (fructosa y glucosa), pérdida de peso y porcentaje de viviparismo. Además se emplearon diferentes empaques (malla y papel) como propuestas y la bolsa de plástico como testigo. Los resultados mostraron que las variables químicas y el color de *virens levis* no cambiaron significativamente durante el almacenamiento, ni por la aplicación de 1-MCP, tampoco fueron notables los beneficios al empacarlos con malla o papel. El uso de 1-MCP redujo el viviparismo, pero no incrementó la resistencia al ataque de *Colletotrichum* sp.

**Palabras clave:** *virens levis*, viviparismo, empaque, 1-MCP

### 3.2. ABSTRACT

The main genotype of the chayote for trading in Mexico and for exportation to the United States and Canada is *virens levis*. The aim of this study is the application of treatments to prolong shelf life and maintain quality. The main problems of this fruit are: dehydration, viviparism and post-harvest diseases. Currently, there is still insufficient information on the postharvest behavior of this fruit under cold storage and room temperature. In addition to using the plastic bag to preserve the fruit has not been able to replace. Therefore, fruits were harvested in horticultural maturity ( $18 \pm 2$  d) and stored at room temperature ( $20 \pm 2$  ° C) and low temperature ( $10 \pm 1$  ° C, 85% RH) for two periods of time (2 and 4 weeks) with and without the application of 1-methylcyclopropene (1-MCP) (0 and 500 nL L<sup>-1</sup>) to reduce viviparity. The variables evaluated were: humidity percentage, titratable acidity, SST (°Brix), chlorophyll *a* and *b* content, and total chlorophyll, color, total sugar content (fructose and glucose), weight loss and percentage of viviparity. In addition, different packages (mesh and paper) are used. The results showed that color spectre do not change during the storage, nor the application of 1-MCP affect the fruit quality as well as the type of package. The use of 1-MCP even reduced the viviparity porcentage, but did not decrease the susceptibility to *Colletotrichum* sp.

**Keywords:** *virens levis*, viviparity, packing, 1-MCP

### 3.3. INTRODUCCIÓN

El chayote *Sechium edule* (Jacq.) Sw. var *virens levis* es el de mayor demanda comercial en México y para exportación a EUA y Canadá. Este fruto se consume en fresco, por lo que los principales problemas del manejo de postcosecha son la deshidratación y presencia de viviparismo, lo cual genera pérdida de calidad y reducción de su vida de anaquel.

Al exportar es necesario prolongar vida de anaquel y la calidad postcosecha y garantizar la inocuidad, para que llegue en condiciones de consumo óptimas al cliente. Con base en lo anterior es necesario la utilización de técnicas para obtener un fruto en las mejores condiciones para garantizar los estándares del comercio mundial. Como parte de la innovación en postcosecha se ha encontrado que el uso de 1-MCP (1-metilciclopropeno), puede inhibir la presencia de viviparismo e incrementa la vida de anaquel. Además por muchos años se ha comercializado el fruto de chayote en bolsas de polietileno, que le ayuda a reducir los daños a la epidermis causados por rozamiento, sin embargo esto ha provocado que las condiciones alrededor del fruto sean de alta humedad relativa, provocando la incidencia de hongos, principalmente la vejiga o salpullido cuyos agentes causales se han reportado como del género *Micovellosiella* sp., afectando al fruto tanto en campo como en postcosecha y se manifiestan sólo en la época húmeda ( GISeM, 2011; Vargas, 1987).

Por lo anterior el objetivo de éste estudio fue evaluar y generar información de los efectos del uso de 1-MCP ( $500 \text{ nL L}^{-1}$ ) sobre la vida de anaquel y calidad postcosecha bajo almacenamiento de refrigeración ( $10 \text{ }^\circ\text{C}$  y  $85 \text{ \% HR}$ ) así como el uso de diferentes empaques individuales: bolsa de polietileno (testigo), papel y malla. Las variables evaluadas fueron la pérdida de peso, porcentaje de viviparismo, pérdida de peso, contenido de clorofila, SST ( $^\circ\text{Brix}$ ), azúcares totales, fructosa y glucosa por HPLC (High Performance Liquid Chromatography) y la acidez titulable.

### 3.4. MATERIALES Y METODOS

#### Material vegetal

Los frutos de chayote *var. virens levis* se tomaron de una empacadora comercial Agroexportadora, ubicada en Huatusco, Veracruz en octubre de 2016. Los frutos (n=164) se eligieron sanos, sin heridas ni defectos, en madurez hortícola  $18 \pm 2$  días después de la antesis (GISeM, 2011) y sin presencia de viviparismo, mismos que fueron transportados en cajas de plástico y cartón hasta el laboratorio de Postcosecha de Laboratorios Generales del Colegio de Postgraduados campus Montecillo, para realizar análisis fisicoquímicos.



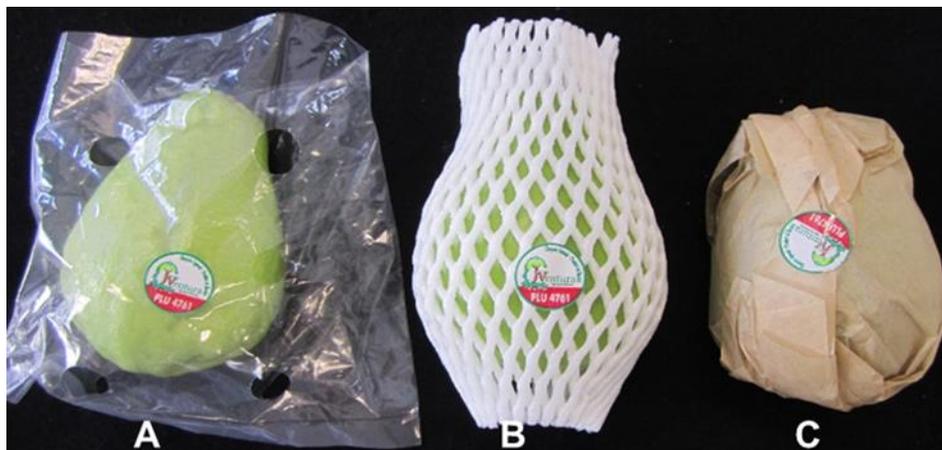
**Figura 3.1.** Frutos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) *var. virens levis* pre empacados para exportación, de donde se tomó la muestra.

#### Distribución del experimento

Los frutos se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio (0.1 %) durante 2 min, y se secaron a temperatura ambiente durante 3 h para eliminar el excedente de agua. Los frutos se dividieron en 18 tratamientos (Cuadro 1), a los cuales se les aplicó 1-MCP en dos concentraciones (0 y 500 nL L<sup>-1</sup>) por 6 h a 20 °C y se utilizaron tres tipos de empaque: bolsa de polietileno, malla y papel.

**Cuadro 3.1.** Distribución de los tratamientos para el experimento con chayote *var. virens levis*.

Tiempo de almacenamiento (semanas)		Empaque	No. Frutos	Dosis 1-MCP (nL L <sup>-1</sup> )
Temperatura ambiente 20 ± 2 °C, 60 % HR	0	Bolsa	10	0 500
		Malla	10	0 500
		Papel	10	0 500
Refrigeración 10 ± 1 °C ,85 % HR	2	Bolsa	10	0 500
		Malla	10	0 500
		Papel	10	0 500
	4	Bolsa	10	0 500
		Malla	10	0 500
		Papel	10	0 500



**Figura 3.2.** Frutos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) *var. virens levis* empacados con A: bolsa plástica, B: malla y C: papel.

Los frutos distribuidos en los diferentes tratamientos se colocaron en cajas de cartón (Cuadro 1) y se almacenaron a temperatura ambiente (20 ± 2 °C, 60 % HR) (6 tratamientos) y baja

temperatura ( $10 \pm 1$  °C, 85 % HR) durante 2 y 4 semanas (6 tratamientos respectivamente) para simular el tiempo de transporte hacia mercados de exportación.

Las variables que se evaluaron cada dos días fueron: pérdida de peso, viviparismo, color e incidencia de ampolla (escala previamente establecida); asimismo se tomó evidencia fotográfica para observar el cambio progresivo de los frutos a través del tiempo, hasta finalizar el experimento.

Las variables: porcentaje de humedad, acidez titulable, SST (°Brix), contenido de clorofila total, a y b, contenido de azúcares totales, fructosa y glucosa por HPLC se evaluaron al inicio del experimento para todos los tratamientos. Se eligieron tres frutos para realizar los análisis considerando un fruto como unidad experimental.

A partir de los 12 días de iniciar el experimento se observó el síntoma de ampolla en todos los tratamientos que se mantuvieron a temperatura ambiente (con y sin 1-MCP), por ello el conteo de las ampollas se realizó a partir del día 13 a partir del inicio del experimento, mientras que para los tratamientos almacenados a 2 y 4 semanas en refrigeración ( $10 \pm 1$  °C y 85 % HR) se realizó el conteo desde que salió de refrigeración hasta los 11 días. Al finalizar el experimento se procedió a la selección al azar de cuatro frutos para aislar el agente causal de la ampolla o vejiga cuyos resultados se reportan en el Capítulo VI.

### **VARIABLES EVALUADAS**

**Porcentaje de humedad:** Con un cuchillo se cortó una rodaja de chayote de 1 cm de espesor (sin semilla). Se colocó 5 g en un sobre de papel Kraft de 8.5 x 15.3 cm y se colocó dentro de un horno mecánico de convección (Lab-Line Imperial V, Alpha Multiservises, Inc. USA) a 50 °C durante 8 días obteniendo un peso constante. Se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{\text{peso húmedo} - \text{peso seco}}{\text{peso húmedo}} * 100$$

**Acidez titulable:** Se obtuvo una rodaja de chayote de 1 cm de espesor (sin semilla), se molió 2 g adicionando 10 mL de agua destilada. Se vertió en un vaso de precipitados de 25 mL y

se le adicionó 3 gotas de indicador de fenolftaleína. Se tituló con NaOH al 0.064N hasta observar el vire. El porcentaje de ácido cítrico se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Acidez titulable (\%)} = \frac{(0.1 * 0.08406 \text{ peso eq NaOH} * 0.064\text{N de NaOH} * \text{gasto de NaOH(ml)})}{(\text{peso de la muestra (g)} * 10 \text{ ml})} * 100$$

**Determinación de SST (°Brix):** Se colocaron unas gotas de jugo de chayote en el lente del refractómetro digital (PAL-1; Atago™, Tokio Japón) y se obtuvo la lectura en °Brix.

**Contenido de clorofila:** Se colocaron 2 g de la pulpa en un vial con tapa, se le adicionaron 10 mL de Acetona (80 %) y se almacenaron en condiciones de oscuridad durante 24 h y a temperatura ambiente. Después, el extracto se midió en tres longitudes de onda: 470, 646 y 663 nm en un espectrofotómetro UV (Thermo Scientific™, modelo GENESYS™ 10UV), usando celdas de vidrio de 1 x 1 x 4.5 cm. Para obtener las concentraciones de clorofilas (mg g<sup>-1</sup>) se aplicó las ecuaciones para el solvente de acetona al 80 % (v/v), según Lichtenthaler (1987):

$$\text{Clorofila a: } C_a = (12.25 * A_{663} - 2.79 * A_{646})$$

$$\text{Clorofila b: } C_b = (21.50 * A_{646} - 5.10 * A_{663})$$

$$\text{Clorofila Total: } C_{a+b} = (7.15 * A_{663} - 18.71 * A_{646})$$

$$\text{Total de carotenoides: } C_{x+c} = \frac{1000 * A_{470} - 1.82 C_a - 85.02 C_b}{198}$$

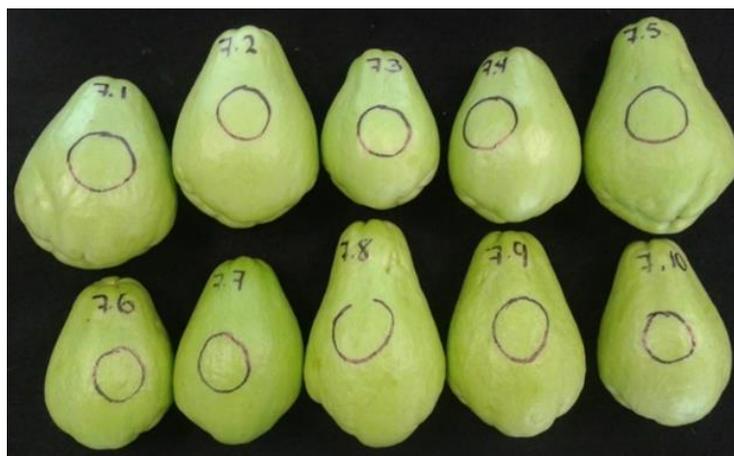
**Contenido de azúcares totales por HPLC:** Para la muestra madre se colocó en un matraz 5 g de pulpa de chayote finamente picada y se le adicionó 60 mL de etanol al 80 %, cubriéndolo con papel aluminio. Se dejó reposar durante 24 h a temperatura ambiente y posteriormente se concentró a ebullición lenta hasta un volumen de 15 mL. De ésta solución se tomó 1 mL y se realizó el proceso de extracción en fase sólida (SPE, por sus siglas en inglés), para ello se tomó 1 mL de muestra y se pasó a un cartucho de limpieza, previamente acondicionado con 6 mL de metanol, seguidos de 6 mL de agua.

El eluato se recuperó en un matraz volumétrico de 5 mL. Se enjuagó el lecho cromatográfico con 3 mL de agua, se juntaron ambos eluatos y se aforó. De la solución anterior se filtró un mililitro con un acrodisco (Titan, 0.45 µm), se colocó en un vial y se analizó por HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) (Series 200, Perkin Elmer™) con automuestreador y detector Índice de Refracción (IR). Se utilizó una columna Pinnacle II Amino de 5 mm 150 x 4.6 mm (Restek™), la fase móvil fue una solución de acetonitrilo/agua (80:20) (v/v) con un tiempo de corrida de 14 min. Se realizaron curvas de calibración en un rango de 0.15 a 5 mg mL<sup>-1</sup> de fructosa y glucosa. Las condiciones del cromatógrafo fueron: temperatura de columna de 35 °C, flujo de 1 mL min<sup>-1</sup>, con un volumen de inyección de 10 µL.

**Pérdida de peso:** Se registró cada dos días el peso de cada chayote que permaneció a temperatura ambiente hasta presentar viviparismo. Se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Pérdida de Peso (\%)} = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} * 100$$

**Color:** Se midió el color externo del fruto con un colorímetro de precisión (3NH TECHNOLOGY CO., LTD, modelo NR20XE), obteniendo automáticamente: L (luminosidad), Chroma (saturación) y Hue (tono). Cada fruto se marcó con un círculo para que la medición se realizara en el mismo lugar durante el experimento (Figura 3).



**Figura 3.3.** Frutos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) var. *virens levis* marcados con un círculo para la medición de color a través de tiempo.

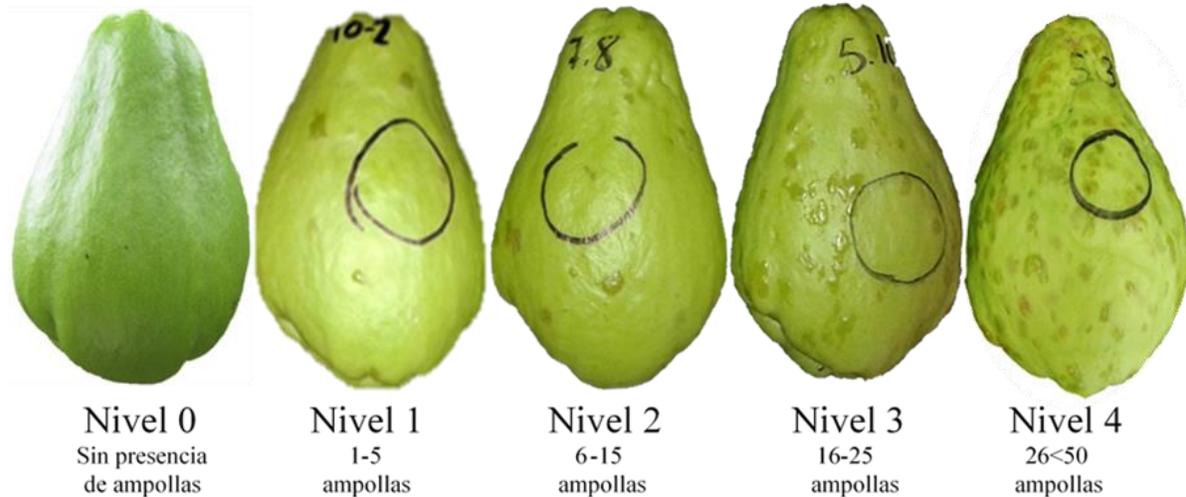
**Viviparismo:** Cada dos días se registró la presencia de viviparismo en el chayote, es decir, sí presentaba apertura basal y la semilla del fruto se hacía visible. Se realizó una escala de acuerdo al grado de apertura de fruto: nivel 0: ausencia de semilla (=0), nivel 1: apertura basal del fruto con la semilla visible, (=2); nivel 2: semilla expuesta del fruto, (=4) (Figura 4).



**Figura 3.4.** Clasificación de viviparismo en chayote *virens levis* A: Nivel 0 = 0; B: nivel 1= 2; y C: nivel 2 = 4.

**Incidencia de ampolla:** La ampolla es una protuberancia que sobresale de la epidermis del chayote, es de forma irregular de 2 a 7 mm, tienen un aspecto acuoso y se distribuyen irregularmente en el fruto (Vargas, 1987).

Los chayotes *virens levis*, que manifestaron ampollas sobre la epidermis fueron contadas y clasificadas en cinco niveles: nivel 0: sin ampollas; nivel 1: de 1 a 5 ampollas; nivel 2: de 6 a 15 ampollas; nivel 3: de 16 a 25 ampollas y nivel 4: de 26 a más de 50 ampollas distribuidas en el fruto (Figura 5).



**Figura 3.5.** Escala gráfica de la clasificación del número de ampollas observadas en la epidermis de frutos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) var. *virens levis*.

### Diseño experimental

Para evaluar las variables: SST (° Brix), contenido de clorofila total, a, b y c, porcentaje de humedad, porcentaje de acidez titulable, azúcares totales, fructosa y glucosa, y color se realizó un diseño experimental factorial 3x3x2. Los factores fueron: tiempo (semanas de almacenamiento), tipo de empaque y dosis de 1-MCP. Los niveles de los factores fueron: semana (0, 2, 4), empaque (bolsa, malla, papel) y 1-MCP (0, 500), y realizándose por triplicado.

Modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + M_j + E_k + SM_{ij} + SE_{ik} + ME_{jk} + SME_{ijk} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = variable de respuesta proveniente de la  $i$ -ésima semana en la  $j$ -ésima dosis de 1- MCP en la  $k$ -ésimo empaque

$\mu$  = media general

$S_i$  = Efecto de la  $i$ -ésima semana ( $i= 0, 2, 4$ )

$M_j$ = Efecto del j-ésimo dosis de 1- MCP ( $j= 0, 500$ )

$E_k$  = Efecto de la i-ésima día ( $k=$  bolsa, malla, papel)

$SM_{ijk}$ = Interacción semana\*dosis de 1- MCP

$SME_{ijk}$ = Interacción semana\*dosis de 1- MCP\*empaque

$\varepsilon_{ijk}$ = Error experimental, dónde:  $N(0, \sigma^2)$ .

Los datos arrojados se analizaron con el software estadístico InfoStat (Di-Rienzo *et al.*, 2016) la prueba estadística ANOVA y comparación de medias de Tukey con un  $P \leq 0.05$ . Para pérdida de peso y viviparismo se calcularon las medias y porcentajes respectivamente. Para evaluar el índice de ampolla se calcularon las proporciones y de éstos se calculó porcentajes según el nivel.

### 3.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los frutos *var. virens levis* contienen en promedio un contenido de materia seca entre 1.67 y 3.8 %, mientras que en la *var nigrum spinosum* es de entre 5.1 y 6.1 % que marca una característica diferencial entre genotipos. Con relación a la acidez la *var. virens levis* son considerados de muy baja acidez con porcentajes de 0.05 a 0.08, Cadena-Iñiguez *et al.*, (2006) reportan valores entre 0.039 a 0.041 % expresado como ácido cítrico.

Con respecto al contenido de SST muestra valores iniciales de 3.77-4.0 %, valores menores a lo reportado por Aung *et al.* (2004) y Cadena-Iñiguez *et al.* (2006), con valores superiores a 5 %. Los resultados no mostraron diferencias significativas entre los diferentes periodos de almacenamiento, tipo de empaque y dosis de 1-MCP. El chayote es un fruto que se cosecha en madurez hortícola, no climatérico, por lo que no experimenta cambios significativos durante el periodo postcosecha. El contenido de azúcares totales en chayote *virens levis* fue de 1.76 g 100 g<sup>-1</sup> y la proporción promedio de fructosa y glucosa fue de 50.79 y 49.20 % (0.89 y 0.86 g 100 g<sup>-1</sup>) respectivamente. Riviello-Flores *et al.*, (2018) reportan un contenido de azúcares totales de 2.03 g 100g<sup>-1</sup>. Estas características hacen del fruto una hortaliza

adecuada para dietas de hospitales. Lo anterior, sugiere que además de los usos conocidos, se podría incluir como una hortaliza adecuada para dietas de hospitales.

El contenido de clorofila total registró valores de 0.59 – 0.96 mg 100g<sup>-1</sup>, y una relación clorofila *a/b* de 0.65-0.72 que sugiere una leve actividad fotosintética, y que al igual que las otras variables, no se vio afectada por los tratamientos. De la misma forma los valores de color en L, Chroma y Hue no presentaron cambios relevantes entre las semanas de almacenamiento (0, 2 y 4), bajo almacenamiento refrigerado (10 ± 1 °C, 85 % HR), ni a temperatura ambiente (20 ± 2 °C, 60 % HR), tampoco presentaron diferencias significativas atribuidas a la aplicación de 1-MCP, ni con en el uso de los diferentes empaques (malla y papel) con relación al testigo (bolsa plástica). Los valores medios en las variables de color fueron de L= 60.50, Chroma (saturación)= 37.18 y Hue (tono)= 108.34.

**Cuadro 3.2.** Contenido de humedad, acidez titulable, sólidos solubles totales, clorofilas y azúcares en frutos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) var. *virens levis* a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) y a la salida de 2 y 4 semanas de almacenamiento bajo refrigeración (10 ± 1 °C), dosis de 1-MCP y empaques.

Factores	Nivel	Variables evaluadas										
		Humedad (%)	AT. (%)	SST (°Brix)	C <sub>a</sub> (mg100g <sup>-1</sup> )	C <sub>b</sub> (mg100g <sup>-1</sup> )	C <sub>a+b</sub> (mg100g <sup>-1</sup> )	C <sub>c</sub> (mg100g <sup>-1</sup> )	Azúcares totales (g100g <sup>-1</sup> )	Fructosa (g100g <sup>-1</sup> )	Glucosa (g100g <sup>-1</sup> )	
	testigo	96.75	0.08	4.00	0.82	0.90	0.34	1.13	1.64	0.83	0.81	
SEAL	T											
	A	0	98.17a	0.08a	4a	1.17b	1.78b	0.59b	0.66a	2.02a	1.03a	0.99a
	R	2	96.15b	0.05b	3.77b	1.99a	2.69a	0.94a	0.50a	1.63b	0.83b	0.8b
		4	98.33a	0.05b	3.95a	1.8a	2.63a	0.89a	0.33a	1.65b	0.83b	0.81b
Dosis 1-MCP	0	97.77a	0.06a	3.85b	1.37b	1.87b	0.74b	0.56a	1.77a	0.89a	0.88a	
	500	97.33b	0.07b	3.96a	1.94a	2.85a	0.95a	0.44a	1.76a	0.9a	0.86a	
Empaque	Bolsa	97.83a	0.07a	3.86b	1.49b	2.23ab	0.72b	0.42a	1.75a	0.88a	0.87ab	
	Malla	97.53b	0.07a	3.86b	1.96a	2.8a	0.65b	0.71a	1.85a	0.94a	0.91a	
	Papel	97.29c	0.06b	3.99a	1.52b	2.07b	0.96a	0.38a	1.70a	0.87a	0.82b	
Semana*Dosis 1-MCP		*	*	*	*	*	*	ns	*	*	*	
Semana*Empaque		*	ns	*	*	*	*	ns	*	ns	ns	
Dosis 1-MCP*Empaque		*	ns	ns	*	ns	*	ns	ns	ns	ns	
Semana*Dosis 1-MCP*Empaque		*	*	*	*	*	*	ns	ns	ns	ns	
Semana*Dosis 1-MCP												
0	0nL L <sup>-1</sup>	98.52a	0.07b	4.11a	0.79d	1.2c	0.4d	0.78a	2.17a	1.09a	1.08a	
0	500nL L <sup>-1</sup>	97.82b	0.09a	3.89b	1.55bc	2.36b	0.78bc	0.55a	1.86b	0.96ab	0.9b	
2	0nL L <sup>-1</sup>	95.99c	0.06bc	3.68c	2.04ab	2.68ab	0.94ab	0.49a	1.6bc	0.81bc	0.79b	
2	500nL L <sup>-1</sup>	96.31c	0.05c	3.86bc	1.95ab	2.69ab	0.93abc	0.52a	1.66bc	0.85bc	0.81b	
4	0nL L <sup>-1</sup>	98.81a	0.05c	3.76bc	1.27cd	1.74bc	0.6cd	0.42a	1.55c	0.78c	0.77b	
4	500nL L <sup>-1</sup>	97.84b	0.06bc	4.15a	2.33a	3.52a	1.17a	0.23a	1.75bc	0.89bc	0.86b	

SEAL=Semanas de almacenamiento; TA=Temperatura ambiente a 20 ± 2 °C; R= refrigeración a 10 °C...; AT= acidez titulable; SST=sólidos solubles totales; C<sub>a</sub>=clorofila a; C<sub>b</sub>=clorofila b; C<sub>a+b</sub>=clorofila total; letras iguales para cada factor con sus niveles son significativamente diferentes; ns, \*=no significativo o significativo, respectivamente, a P≤0.05.

## Presencia de viviparismo

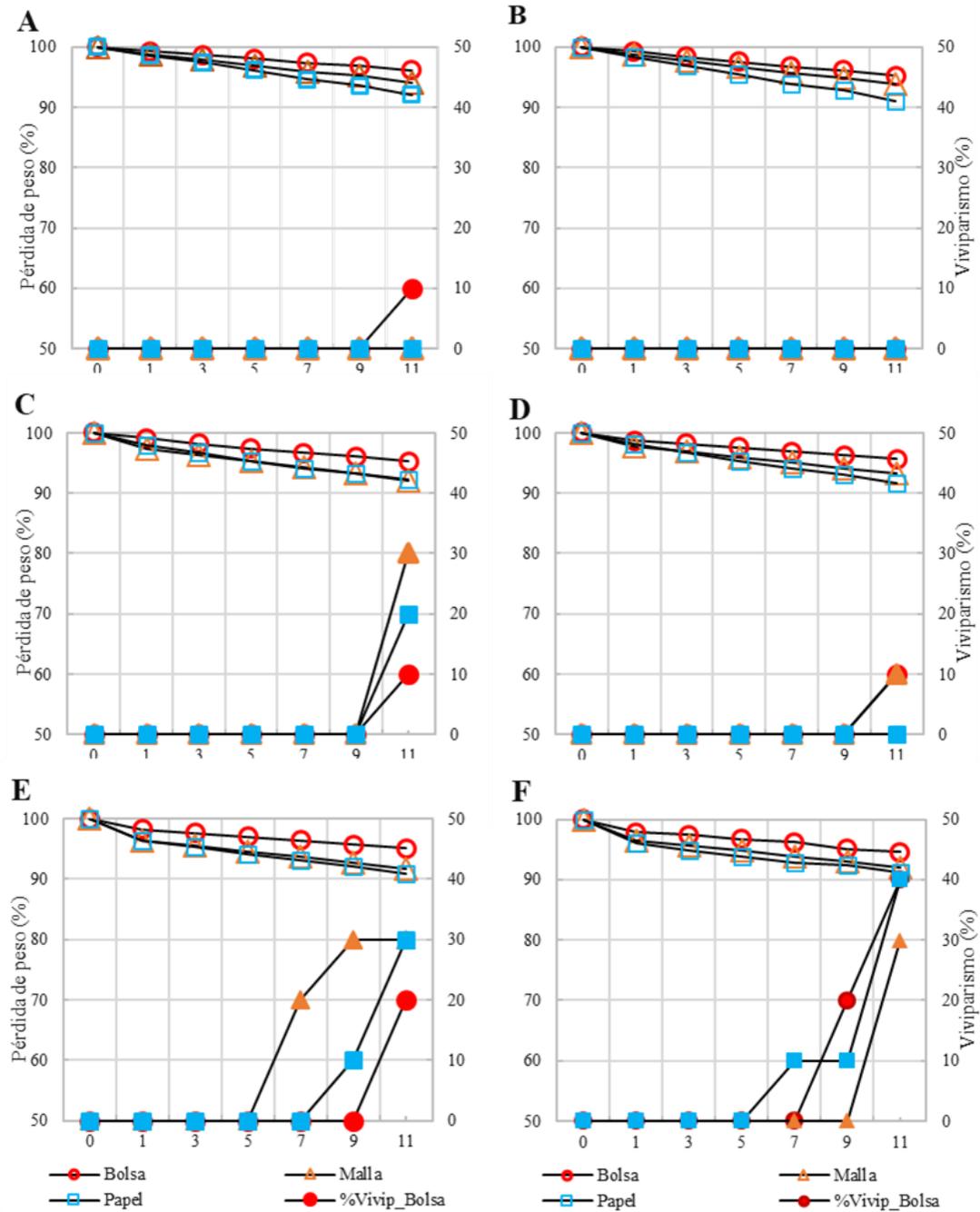
Durante el periodo de evaluación de los frutos mantenidos a temperatura ambiente y refrigeración, se observó que al día 11, no hubo diferencia significativa entre tratamientos. Con relación a los frutos testigo (bolsa) a temperatura ambiente, fueron los únicos que presentaron un 10 % de viviparismo, mientras que los frutos tratados con 1-MCP (500 nL L<sup>-1</sup>) no presentaron este fenómeno, sino hasta el día 17, sin existir diferencia entre tratamientos mantenidos en bolsa, malla o papel.

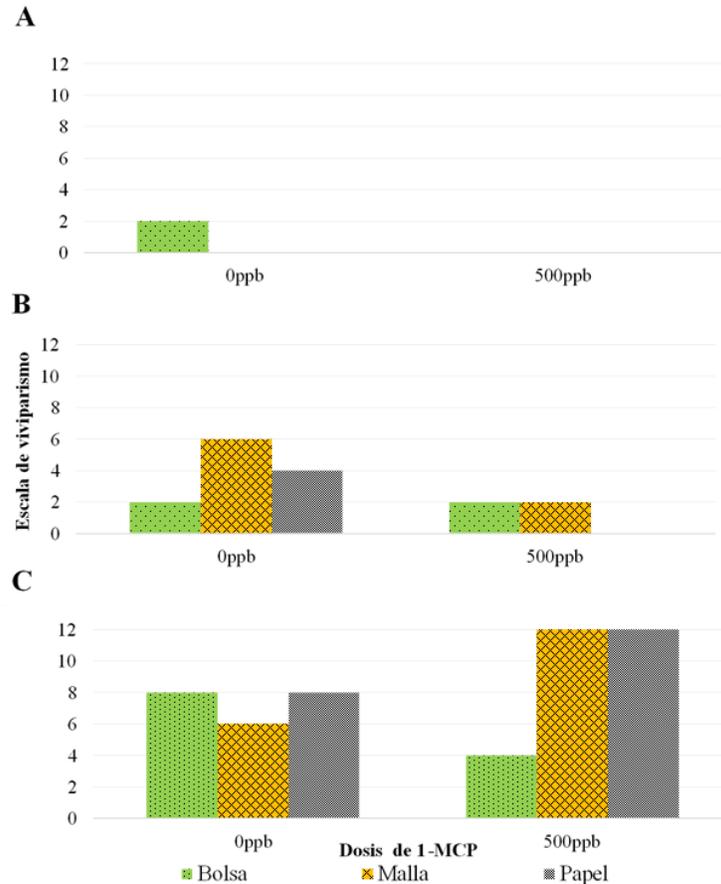
Con relación a los frutos testigo (bolsa) almacenados en refrigeración ( $10 \pm 1$  °C) durante 2 semanas a los 11 d de salida del almacenamiento también se presentó un 10 % de viviparismo, mientras que los mantenidos en malla tuvieron 30 %. Los frutos tratados con 1-MCP (500 nL L<sup>-1</sup>) tuvieron una reducción significativa en inhibir el viviparismo, ya que sólo se presentó 10 % de este en los frutos con bolsa y malla, a los 11 d de evaluación. Después del almacenamiento por 4 semanas, la presencia de viviparismo fue de 20 % en los frutos testigo (bolsa) al día 11, mientras que en papel se presentó 10 % al día nueve, mientras que en malla se presentó en el 20 % de los frutos al día siete de almacenamiento. Con la aplicación de 1-MCP, los frutos con malla tuvieron de 30 % al 11 día, y en papel al día siete solo presentaron un 10 % de viviparismo (Figura 3.6).

El 1-MCP es uno de los productos químicos más utilizado en postcosecha que tiene el objetivo de ocupar los sitios receptores del etileno, y evita la acción de este, previniendo los cambios inherentes a la maduración y senescencia (Sisler y Serek ,1997). Al producirse etileno se promueve la maduración y en caso del chayote el viviparismo.

El viviparismo es el desarrollo y germinación de la semilla dentro del fruto, siendo el chayote como el único fruto que tiene solo una semilla con esta capacidad a diferencia de las demás cucurbitáceas (Ricciarelli *et al.*1994). Este fenómeno se asocia con giberelinas, hormonas relacionadas con la germinación de las semillas y con una estrecha relación con etileno (Aung *et al.*, 2004). Por lo anterior en los tratamientos en donde que no se aplicó 1-MCP, se presentó un mayor porcentaje de viviparismo que en los frutos tratados con este inhibidor a

temperatura ambiente y a 2 semanas, sin embargo a las 4 semanas es sorprendente el incremento de viviparismo en los frutos tratados con 1-MCP (Figuras 3.6 y 3.7). Este fenómeno puede atribuirse a que el etileno se sigue generando a pesar de la presencia de 1-MCP, aunque regulado o producido en muy bajas concentraciones debido a la ocupación de los sitios receptores, por lo que puede acumularse poco a poco. Posteriormente, después de que el 1-MCP desaparece, el etileno acumulado puede acelerar los procesos que estimulan la germinación de la semilla y como consecuencia a la presencia de viviparismo.





**Figura 3.7.** A: Escala de viviparismo de frutos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) var. *virens levis* a los 13 días a temperatura ambiente  $20 \pm 2$  °C (60 % HR) empacado en bolsa, malla y papel, y con dosis de 0, 500 nL L<sup>-1</sup> de 1-MCP; B: Incidencia de viviparismo, y C: Incidencia de viviparismo después de 4 semanas de almacenamiento en refrigeración ( $10 \pm 1$  °C, 85 % HR) empacados en bolsa, malla y papel, con dosis de 1-MCP de y 500 nL L<sup>-1</sup> y evaluados a temperatura ambiente hasta los 11 d.

### Incidencia de ampolla

La ampolla es un síntoma causado por la infección de *Colletorichum* sp. que se manifiesta como protuberancias transparentes secas sobre la superficie del fruto y que se presenta en mayor grado en época de lluvia. Con el tiempo si existen las condiciones propicias puede abarcar completamente la superficie del fruto (Vargas, 1987).

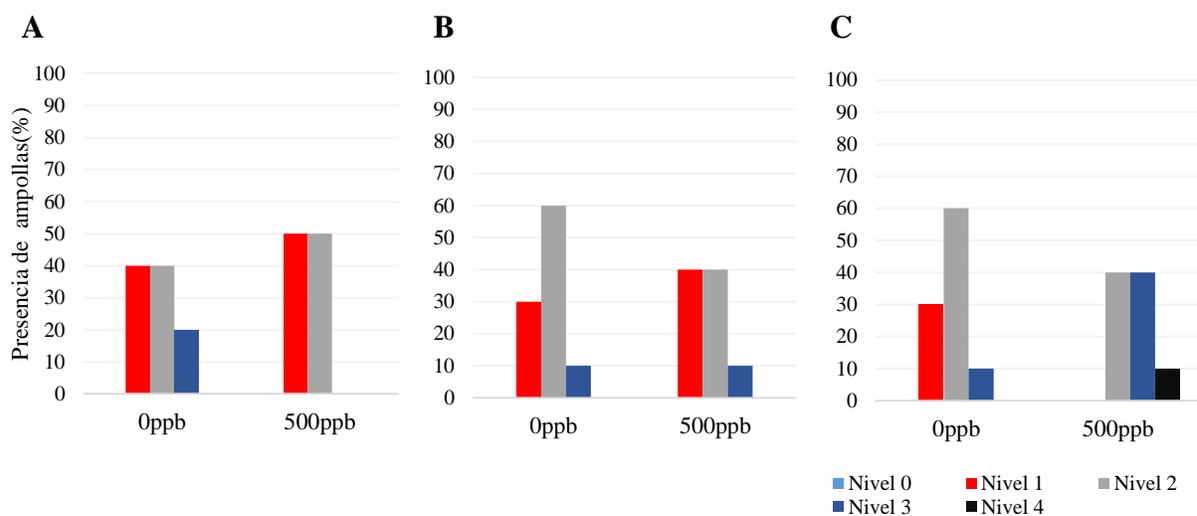
De manera general se puede observar que los frutos tratados con 1-MCP pueden desarrollar mayor nivel de incidencia de ampolla, es posible que sea el resultado de que los frutos requieren cierta concentración de etileno endógeno para mantener la resistencia a enfermedades, debido a su relación con la producción de compuestos derivados del metabolismo secundario. Por ejemplo, los frutos mantenidos a temperatura ambiente con y sin 1-MCP, se desarrollaron niveles similares de incidencia de ampolla, siendo los frutos mantenidos en papel aquellos que tuvieron mayor severidad (Figura 3.8).

Con relación a los frutos almacenados a temperatura de refrigeración, se observó mayor susceptibilidad al desarrollo de ampolla, como respuesta causada por el frío, y el tipo de empaque, ya que los frutos conservados en malla sin 1-MCP y almacenados por 2 semanas tuvieron un nivel 4 de ampolla en el 70 % de los frutos, mientras que los frutos testigo (bolsa) solo tuvieron un 10 %.

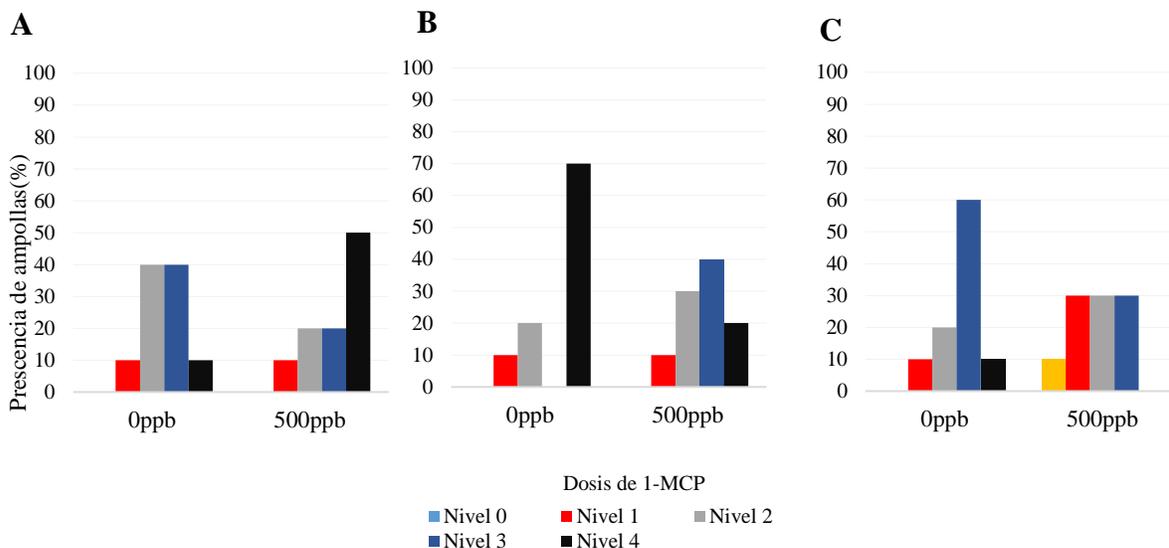
El almacenamiento a 4 semanas mostró un incremento sustancial en la susceptibilidad a la ampolla en todos los tratamientos, con el 50 % de los frutos en nivel 4, en los frutos tratados con 1-MCP y mantenidos en bolsa, mientras que en malla sin 1-MCP fue del 70 % del nivel 4. Por lo tanto, como se observa en las figuras 3.9 y 3.10, la susceptibilidad al ataque de ampolla incrementa con el tiempo de almacenamiento, sin que el 1-MCP tenga un efecto inhibitorio. Díaz *et al.*, (2002) citan a Ryan, (2000) que el etileno se libera del tejido vegetal lesionado y participa en la señalización de la respuesta de la herida en concierto con otros compuestos, como oligo galacturónidos (OGA), ácido jásmonico, ácido abscísico, peróxido de hidrógeno, entre otros, que están relacionados con el mecanismos de defensa del tejido.

Bower *et al.* (2003) mostraron que en frutos de fresa la aplicación de 1-MCP tiene efectos negativos en la calidad de fruto, debido a que la pudrición se desarrolló más rápidamente en todos los frutos tratados con 1-MCP que en los frutos testigo. Asimismo, Porat *et al.* (1999) señalan que en frutos de naranja 'Shamouti' la aplicación de 1-MCP con y sin aplicación posterior de etileno incrementan la susceptibilidad de los frutos a la pudrición, sin importar el patógeno causante de la enfermedad. Es importante destacar que existen diversos factores que están afectando la influencia del 1-MCP en el desarrollo de la incidencia de

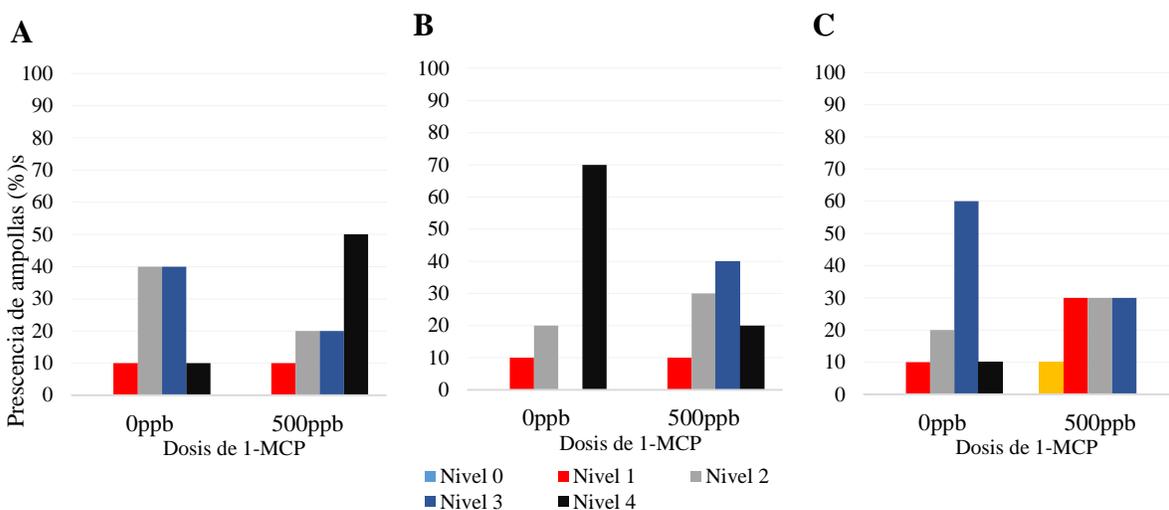
enfermedades en los frutos, por ejemplo, el tipo de producto y la interacción con un patógeno específico, además del ambiente. Se ha visto que pequeñas cantidades de etileno endógeno pueden ser necesarias para mantener los niveles básicos de resistencia al ambiente y al estrés causado por el patógeno, debido a su papel en la regulación de los genes de defensa del tejido vegetal. Por lo anterior se puede asumir que el 1-MCP no inhibe la incidencia de *Colletotrichum* sp. en chayote, más bien el desarrollo de la ampolla está determinado por el tipo de empaque y tiempo de almacenamiento, concluyendo que la bolsa es el empaque que mantiene mejor las características de calidad del fruto hasta 11 d a temperatura ambiente y 17 d con 1-MCP.



**Figura 3.8.** Nivel de ampolla registrada en frutos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) var. *virens levis* empacado en (A) bolsa, (B) malla y (C) papel bajo temperatura ambiente con 0 y 500 nL L<sup>-1</sup> de 1-MCP a los 13 días.



**Figura 3.9.** Nivel de ampolla registrado en frutos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) var. *virans levis* empacado en (A) bolsa, (B) malla y (C) papel, después de 2 semanas de almacenamiento en refrigeración a  $10 \pm 1$  °C (85 % HR) con dosis de 0 y 500 nL L<sup>-1</sup> de 1-MCP y puestos a temperatura ambiente hasta los 11 días.



**Figura 3.10.** Nivel de ampolla registrado en frutos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) var. *virans levis* empacado en (A) bolsa, (B) malla y (C) papel, después de 4 semanas de almacenamiento en refrigeración a  $10 \pm 1$  °C con dosis de 0 y 500 nL L<sup>-1</sup> de 1-MCP y puestos a temperatura ambiente hasta los 11 días.

### 3.1.CONCLUSIONES

Los tratamientos aplicados a los frutos de chayote *var. virens levis* (verde liso) como los fueron tipo de empaque, aplicación de 1-MCP y tiempo de almacenamiento, no tuvieron efectos significativos en las variables químicas y color del fruto. Sin embargo si hubo cambios en la presencia de viviparismo e incidencia de enfermedades, tales como ampolla, causada por *Colletotrichum* sp. Se observó que la bolsa, empaque utilizado por los productores, mantiene las características de calidad del fruto por más tiempo (11 d) a temperatura ambiente y por 17 d con aplicación de 1-MCP, ya que inhibió significativamente la presencia de viviparismo. La susceptibilidad al ataque de ampolla se ve incrementada en almacenamiento refrigerado, sin diferencia entre los frutos tratados con y sin 1-MCP, pero siendo menor la incidencia en los frutos con bolsa, mientras que los frutos con malla fueron los que tuvieron mayores porcentajes de frutos dañados por esta enfermedad, así como por la incidencia de viviparismo.

### 3.2. LITERATURA CITADA

- Aung, L. H., Harris, C. M., & Jenner, J. F. 2004. Chemical growth regulators on postharvest sprout development of *Sechium edule* Swartz. *Phyton*, Buenos Aires, 73, 155-164.
- Bower, J.H., Biasi, W.V., Mitchat, E.J. 2003. Effects of ethylene and 1-MCP on the quality and storage life of strawberries. *Postharvest Biology and Technology* 28: 417-423.
- Cadena-Iñiguez J., Arévalo-Galarza M. L. C., Ruiz-Posadas L., Aguirre-Medina J.F., Soto-Hernández M., Luna-Cavazos M., Zavaleta-Mancera H.A. 2006. Quality evaluation and influence of 1-MCP on *Sechium edule* (Jacq.) Sw. fruit during postharvest. *Postharvest Biology and Technology* 40: 170-176.
- Di-Rienzo, J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M. Robledo C.W. InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- GISeM. 2011. Rescatando y aprovechando los recursos fitogenéticos de Mesoamérica. Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Estado de México. 2: 4 y 22.
- Lichtenthaler, Harmut K.1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes. *Method Enzymology*, 148: 350-383.
- Porat Ron , Weiss Batia, Cohen Lea, Daus Avinoam, Goren Raphael and Droby Samir. 1999. Effects of ethylene and 1-methylcyclopropene on the postharvest qualities of ‘Shamouti’ oranges. *Postharvest Biology and Technology*. 15 (2): 155-163. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(98\)00079-9](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(98)00079-9).
- Ricciarelli, P., Piaggese, A., & Lorenzi, R. (1994). ABA metabolite levels in developing embryo of *Sechium edule* Sw. *Advances in Horticultural Science*, 8(4), 201-204. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/42883140>.
- Riviello-Flores María de la Luz, Arévalo-Galarza M. L. C., Cadena-Iñiguez Jorge, Soto-Hernández Ramón Marcos, Ruiz-Posadas Lucero del Mar, Gómez-Merino Fernando C. 2018. Nutraceutical Characteristics of the Extracts and Juice of Chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) Fruits. *Beverages* 4: 37-47. doi:10.3390/beverages4020037

- Ryan, C. A. 2000. The systemin signaling pathway: differential activation of plant defensive genes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1477 (1-2): 112-121.
- Sisler E., C., and M. Serek. 1997. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: Recent developments. *Physiology Plant*. 100(3): 577-582.
- Vargas Edgar. 1987. La vejiga del fruto, una nueva enfermedad del chayote (*Sechium edule* L.). *Nota técnica Agronomía Costarricense*. 12(1): 123-126

## CAPÍTULO IV. *Colletotrichum musae* ASOCIADO AL SÍNTOMA DE AMPOLLA EN FRUTOS DE CHAYOTE (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) *var. virens levis*

### 4.1. RESUMEN

El fruto de chayote *var. virens levis* es una hortaliza de exportación, y tradicionalmente se empaca de forma individual en una bolsa de polietileno, y se embala en cajas de cartón con capacidad de 40 libras (18.6 kg) que contienen 60 piezas, mismas que deben ir estibadas en el interior en tres capas de 20 frutos cada una. En época de lluvias se presentan en la superficie del fruto algunas protuberancias transparentes, semejantes a ampollas, dándole un aspecto desagradable y que genera rechazo de los frutos y pérdidas económicas. Al momento, no existe ningún reporte que identifique la especie del patógeno como agente causal. Por lo anterior se procedió a caracterizar morfológicamente e identificar molecularmente (Actina) el agente causal de este síntoma. Se aisló y purificó el hongo en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar y antibiótico. Los resultados mostraron que *Colletotrichum musae* es el agente causal del síntoma de ampolla en el fruto de la *var. virens levis*.

**Palabras clave:** verde liso, enfermedades postcosecha, transporte, almacenamiento.

## 4.2. ABSTRACT

The fruit of chayote *var. virens levis* is an export vegetable, and is traditionally packed individually in a polyethylene bag, and packed in boxes of cardboard boxes with capacity of 40 pounds (18.6 kg) containing 60 pieces, which must be stowed in the interior in three layers of 20 fruits each. During the rainy season, some transparent protuberances, similar to blisters, appear on the surface of the fruit, giving it an unpleasant appearance that generates rejection of the fruits and economic losses. At the moment, there is no report that identifies the species of the pathogen as a causative agent. For this reason, we proceeded to morphologically characterize and molecularly identify (Actin) the causal agent of this symptom. The fungus was isolated and purified in Papa Dextrose Agar culture medium and antibiotic. The results showed that *Colletotrichum musae* is the causal agent of the blister symptom in the fruit of the *var. virens levis*.

**Key words:** smooth green, postharvest disease, transport, storage

### 4.3. INTRODUCCIÓN

México es el centro de origen, domesticación y diversificación del chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) (Galindo-Leal, 2017). Dentro de la variación que presenta *S. edule*, el grupo varietal *virens levis* (verde liso) es el de mayor producción y demanda para la exportación (Avendaño-Arrazate, *et al.*, 2014), cuyos destinos principales son Estados Unidos y Canadá (Cadena-Iñiguez, *et al.*, 2016). El estado de Veracruz es el principal productor de chayote, cuenta con una superficie de 2,392 ha para siembra y cosecha, las cuales producen 156,520 ton de fruto, que equivale al 84.62 % del total nacional (SIAP, 2016).

El mercado de fruto fresco exige estándares de calidad, además de una apariencia agradable al consumidor. Con respecto a lo anterior el chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw) var. *virens levis* es susceptible a daños postcosecha y transporte debido a la fricción o roce, compresión e impacto, lo que facilita el ataque de hongos y en consecuencia el rechazo en el mercado (Romero-Velázquez, *et al.*, 2015). Empacar de forma muy ajustada, puede causar daños por compresión a los frutos, pero hacerlo de forma holgada puede causar vibración y daños por rozadura o abrasión. Generalmente los chayotes se transportan en cajas de plástico (40 libras) cuando el destino son los supermercados, mientras que para la exportación se utilizan cajas de cartón con capacidad de 40 libras (18.6 kg) que contienen 60 piezas. También se transportan en cajas de 15 libras (7.5 kg), donde los frutos son separados en cuatro divisiones, cada una con seis piezas.

Los frutos se empacan individualmente en una bolsa de plástico perforada, lo cual acumula humedad alrededor del fruto por transpiración, que, aunado a la delicada cutícula, susceptible a daños favorece el desarrollo de enfermedades fungosas (Cadena-Iñiguez, *et al.*, 2007; Arévalo-Galarza *et al.*, 2011; Cadena-Iñiguez *et al.*, 2016).

Aun cuando el transporte del fruto hacia el mercado se realiza a baja temperatura (7 a 10 °C y 85 % HR) existen rechazos mayores al 20 %, debido al desarrollo de enfermedades, que se acentúan en la época de lluvias y de mayor producción, ya que el salpique de la lluvia es el agente de diseminación de patógenos que infectan a los frutos durante su crecimiento (Cadena-Iñiguez, *et al.*, 2006; Alvarado, *et al.*, 1989).

Las enfermedades fungosas más importantes identificadas en frutos de chayote en México son: *Didymella bryoniae* causante de la “gomosis de las cucurbitáceas” y *Fusarium oxysporum* y *F. solani* (Romero-Velázquez *et al.*, 2015). En México adicionalmente Olguín-Hernández *et al.*, (2011) reportan a *Colletotrichum gloesporioides* asociado a secadera de guías laterales en chayote, presentándose en periodos de alta humedad relativa (85 a 90 %) y temperaturas entre 19 a 25 °C, además en frutos postcosecha reporta *Colletotrichum orbiculare* (antracnosis) presentando lesiones redondas, hundidas y húmedas, provocadas por alta humedad, poca aireación y poca luminosidad en las huertas (Olguín-Hernández *et al.*, 2017). Sin embargo, existe otro síntoma muy común que aparece tanto en campo como en postcosecha en época de lluvia, conocido como ampolla, vejiga o salpullido( ampollas acuosas de color transparente) (Vargas, 1987) y que aparecen en frutos en madurez fisiológica y que en principio tienen forma circular y posteriormente cubren casi la totalidad del fruto con ampollas amorfas; se ha atribuido a diferentes patógenos. Alvarado *et al.*, (1989) y Vargas (1987) indican que en Costa Rica, el síntoma de ampolla en frutos de chayote es causado por *Mycovellosiella cucurbiticola* o *M. lantanae*; sin embargo, no se registra que hayan realizado estudios moleculares para la identificación del hongo.

El proceso infectivo del hongo causante de la ampolla, en frutos de chayote *var. virens levis* no se conoce con exactitud, pero pudiera ser similar al proceso de infección de las especies de *Colletotrichum* sp. (Rodríguez-López *et al.*, 2009) éste consiste en:

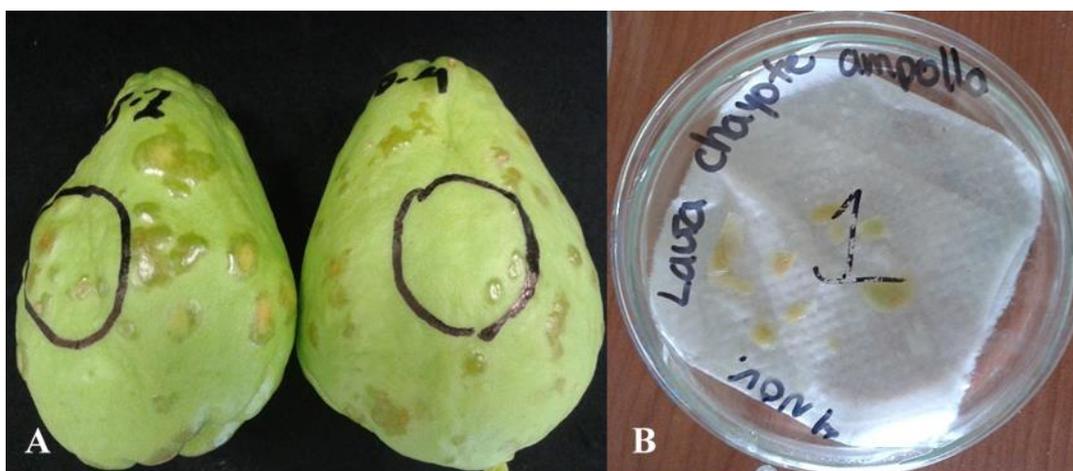
1. Arribo del conidio en la superficie del fruto
2. Adhesión a la superficie de hospedante
3. Germinación
4. Formación de apresorio
5. Penetración de la epidermis
6. Crecimiento y colonización de los tejidos del hospedante
7. Formación del acérvulo y esporulación.

Por lo anterior el objetivo de este estudio fue identificar y caracterizar al agente causal del síntoma de ampolla en frutos de chayote *var. virens levis* proveniente de Huatusco, Veracruz.

#### 4.4. MATERIALES Y MÉTODOS

##### Material vegetal

Los frutos de chayote *var.virens levis* se tomaron de una empacadora exportadora ubicada en Huatusco, Veracruz, México. La selección fue aleatoria de frutos de chayotes *var.virens levis* con síntomas de ampolla (Figura 1).



**Figura 4.1.** A: Frutos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) *var. virens levis* con síntoma de ampolla distribuido en la epidermis del fruto. B: Cortes de ampolla colocados en cámara húmeda.

##### Aislamiento de hongos

En total se seleccionaron cuatro frutos con síntoma de ampolla, en cada uno de ellos se realizaron dos cortes del síntoma; los cortes fueron realizados en la zona de avance de la lesión de aproximadamente 5 mm de diámetro. Se desinfectaron en hipoclorito de sodio al 1.5 % durante 2 min y se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril; después se eliminó el exceso de agua con un papel absorbente estéril. Posteriormente se colocaron dos tejidos por cada caja Petri de 90 mm con medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) y antibiótico (K4000 Sigma-Aldrich®, sulfato de kanamicina de *Streptomyces kanamyceticus*).

Las cajas Petri se sellaron con plástico (PVC Film) y se etiquetaron e incubaron por 7 d en luz blanca a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$  en condiciones de laboratorio, donde se monitoreó su crecimiento diariamente. Se realizaron resiembras sucesivas con PDA para purificar los hongos desarrollados. La purificación de aislamientos se realizó por punta de hifa.

Las colonias de hongos más uniformes en color y micelio se purificaron mediante la técnica de corte de punta de hifa y resembraron en tres cajas Petri de 90 mm con medio de cultivo PDA. A partir de aislamientos desarrollados en PDA, para su crecimiento y se tomaron 25 discos de 5 mm para depositarlas en 6 tubos Eppendorf (2 mL) con glicerol (20 %) para su conservación en refrigeración a  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su uso.

### **Caracterización morfológica**

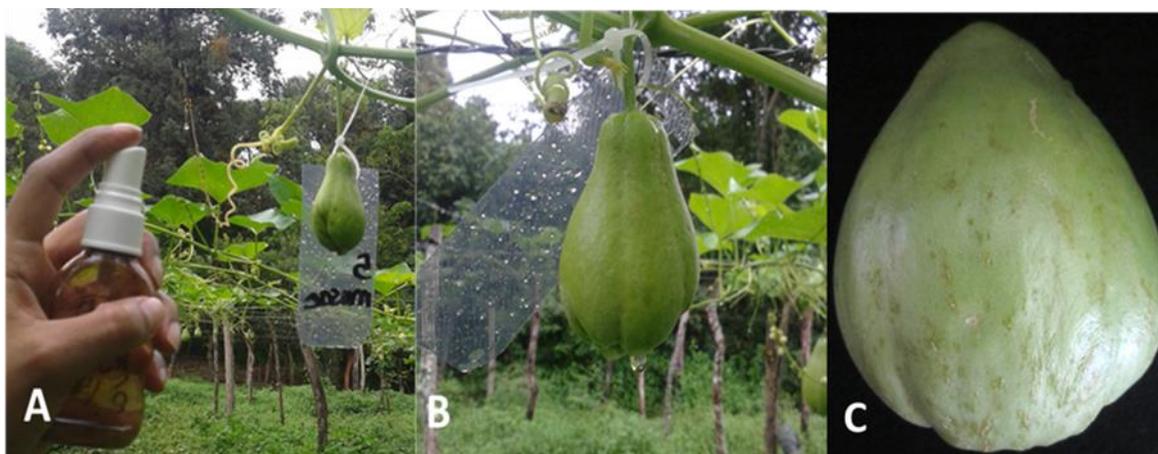
La caracterización morfológica del hongo se realizó en cajas Petri, registrando la pigmentación del micelio al reverso y centro de la colonia, forma de la colonia, tamaño y forma de conidios, también al esporular el hongo se tomó con una jeringa una muestra para realizar una suspensión de conidios en una gota de agua estéril sobre un cubre objeto en cámara húmeda durante 24 h para desarrollar los apresorios. Esto se realizó en un microscopio compuesto (Olimpus VX 41) con cámara Olympus U-CMAD3 T2, U-TV1X-2 T2 (Tokio, Japón) y magnificación de 40X, y con la ayuda del programa I IMAGENJ Windows 64 (Schindeli *et al.*, 2015) se midieron las dimensiones de los conidios y los apresorios en preparaciones en portaobjetos, adicionando una gota de glicerol al 50 % y cubreobjetos. La forma de los conidios se determinó con base en lo establecido por Sutton (1980).

### **Pruebas de patogenicidad**

Las colonias preservadas se reactivaron y sembraron en cajas con medio de cultivo harina de maíz (48.8 %), agar (43.9 %), glucosa (4.8 %) y extracto de levadura (2.4 %). Después de ocho días de crecimiento del total de las 75 cajas Petri, se raspó el micelio de cada caja con ayuda de una espátula estéril y se transfirió inmediatamente a un aspersor que previamente se agregó un agente humectante (Tween 20<sup>®</sup>, 2 gotas/L de agua) y 40 mL de agua estéril, obteniendo una concentración de conidios de  $1 \times 10^6$  conidios mL<sup>-1</sup>.

Posteriormente se seleccionaron 50 frutos (40 suspensión de conidios y 10 agua estéril) (6-8 cm de longitud y con cuatro a seis días de edad), de plantas de chayote de la plantación comercial ubicada en Huatusco Veracruz, y se realizó una aspersión de los frutos apunto de goteo (1 mL por fruto) a una distancia de 10 a 15 cm de forma inclinada y por ambas caras del fruto a las 8 am (Figura 2). El material se recolectó hasta la aparición de síntomas, se cosecharon y se colocaron en bolsas de plástico (Ziploc® de 26.8 x 27.3 cm) para su traslado al laboratorio de Enfermedades Postcosecha del Posgrado en Fitopatología del Colegio de Postgraduados.

Debido a que todos los frutos (40 asperjados con suspensión de conidios) presentaron síntoma de ampolla se tomaron cuatro frutos al azar y de ellos tres muestras de 5 mm de tejido con síntoma de ampolla, se colocaron sobre portaobjetos y papel húmedo estéril dentro de cajas Petri y se mantuvieron en cámara húmeda a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$  por 8 d, para promover la esporulación. Posteriormente se tomó una muestra del tejido con la punta de una jeringa estéril y se colocó en un portaobjetos con glicerol (50 %) para su observación al microscopio compuesto.



**Figura 4.2.A:** Inoculación de frutos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) var. *virens levis* mediante aspersión con suspensión de conidios. B: Chayote de cuatro a seis días de crecimiento. C) Síntomas iniciales de ampolla

#### **Extracción de ADN**

Se llevó a cabo el protocolo del Kit Wizard PROMEGA®, para ello se raspó el micelio de los aislamientos, se molió en un mortero hasta obtener una masa y transferirla a un tubo eppendorf (2

mL), se adicionaron 600  $\mu$ L de Nuclei Lysis Solution y se incubó a 37 °C en baño María) por 1 h. Luego se colocó a -20 °C por 5 min en el refrigerador. Después se agregaron 200  $\mu$ L de Protein Precipitation Solution, se mezcló en un Vortex por 20 s y se centrifugó a 25,000 g por 10 min. El sobrenadante se transfirió a un tubo de 2  $\mu$ L para centrifuga, se agregaron 600  $\mu$ L de isopropanol frío y se almacenó durante 24 h a -20 °C. Al día siguiente la solución se centrifugó a 25,000 g por 5 min, se tiró el sobrenadante, se agregó 600  $\mu$ L de etanol (70 %) y se centrifugó nuevamente a 25,000 g por 5 min, repitiendo dos veces este procedimiento.

El etanol se retiró del tubo y este se colocó boca abajo en una sanita estéril durante 30 min quedando en el fondo del tubo el pellet con ADN. Posteriormente se adicionó al tubo 20  $\mu$ L de Rehydration Solution y 3  $\mu$ L de RNase y se incubó a 37 °C (baño María) durante 1 h y finalmente se almacenó a -20 °C para su uso posterior.

### **Identificación molecular**

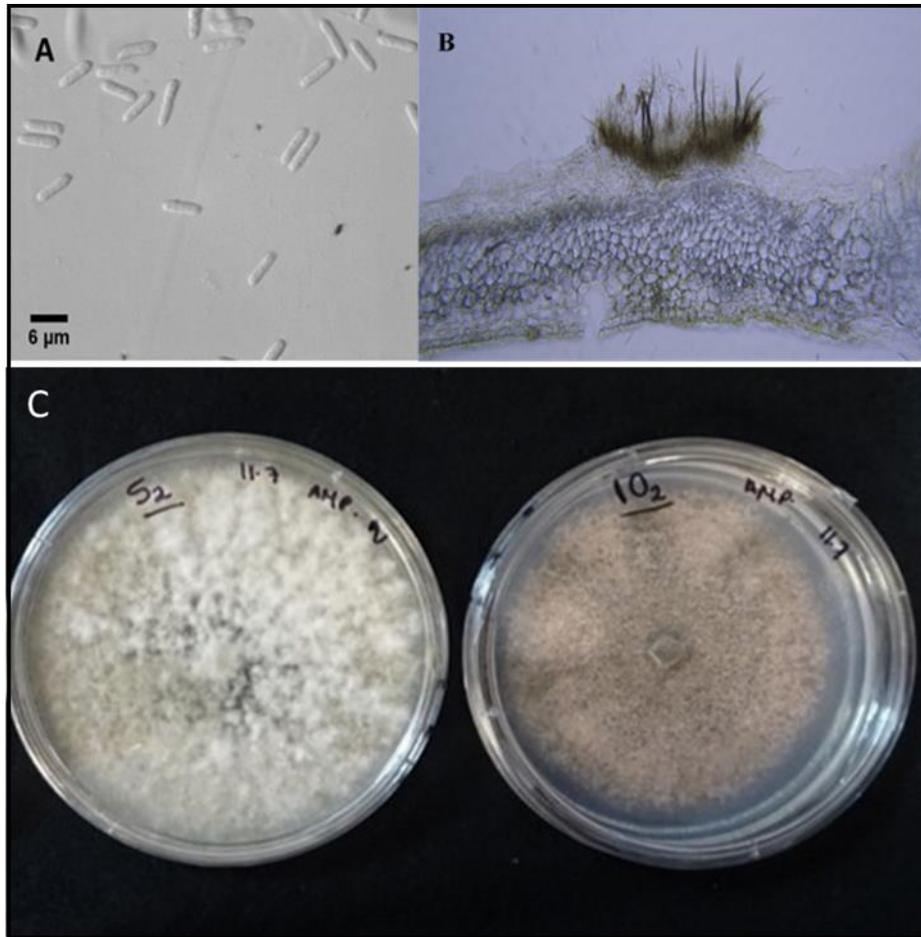
Los pellets obtenidos se enviaron al Laboratorio Macrogen® en Seúl Corea del Sur para su secuenciación. Con las secuencias obtenidas se realizó la limpieza de estas en el programa MEGA7 y luego se compararon con las disponibles en el GenBank con el uso de la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Too).

## **4.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Aislamiento e identificación del agente causal**

Las colonias presentaron una forma circular y pigmentación de micelio rosado (o naranja pálido o salmón) con el reverso marrón y café en el centro y de gris a verde (gris oliva) con reverso verde con centro café. El micelio es de apariencia algodonosa, sin anillo pronunciado, con un diámetro promedio de 70.23 mm con un mínimo de 54.68 mm y máximo de 83.47 mm.

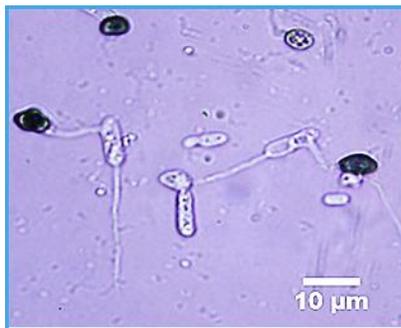
Los conidios presentaron una forma elipsoidal, rectos, no septados, hialinos (transparentes) con dimensiones promedio 6.14 x 2.74  $\mu$ m, con una longitud mínima y máxima de 1.39 x 5.80 y ancho de 0.47 x 1.67  $\mu$ m (Figura 3).



**Figura 4.3.** A) Conidios de *Colletotrichum musae* (magnificación 40 X); B) Acérvulo aislado en tejido enfermo de frutos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) var. *virens levis* (magnificación 16 X) y C) Colonias aisladas del síntoma de ampolla en chayote *virens levis* en vista superior.

El acérvulo presentó una longitud promedio de 120.29 µm, emergiendo el patógeno de la superficie del hospedero al romper la cutícula (Figura 3 B). Couto y Menezes (2004) reportan que en *Colletotrichum musae*, los conidios aislados de cuatro cultivares de plátano (*Musa* sp.) en Brasil y en medio de PDA presentaron dimensiones promedio de 11.4 x 3.8 µm y sus colonias un diámetro de 60.0 a 90.0 mm. El apresorio tuvo una media de largo por ancho de 12.6 x 3.6 µm, con una longitud 6.9 µm mín. y máx. de 15.0 µm y ancho de 2.9 mín. y 4.1 µm máx., de forma simples, globosos y algunas veces irregulares (Figura 5); las características coinciden con lo descrito por Sutton (1980) para *Colletotrichum musae*.

Thangamani *et al.* (2011) reportaron que de 16 aislamientos de *C. musae* en PDA, colectados de plátanos con antracnosis en la India presentaron un largo de 10.2 a 14.7  $\mu\text{m}$  y de ancho 5.0 a 7.1  $\mu\text{m}$ , además de un diámetro de las colonias de 81.0 a 90.0 mm; además Su *et al.* (2011) menciona que el largo de los conidios de *C. musae* aislados en plátano en Tailandia fue de 11.5 a 19.5  $\mu\text{m}$  y de ancho 4 a 5  $\mu\text{m}$ .



**Figura 4.4.** Apresorios formados de los conidios de *Colletotrichum musae* a 40X.

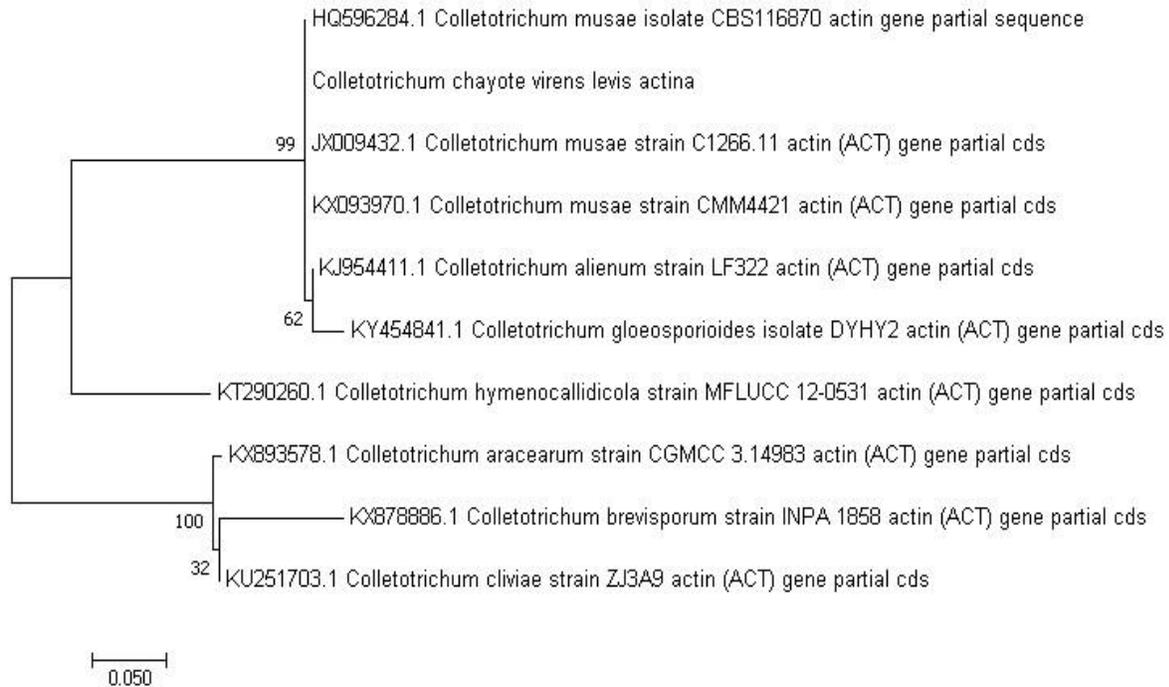
### Identificación molecular

La secuencia amplificada por la región parcial de Actina (Woudenberg *et al.*, 2009) generaron un fragmento de 246 pares de bases (pb). La secuencia obtenida de frutos chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) *var. virens levis* procedentes de Veracruz, México fue depositado en el GenBank con la clave de acceso: MH005029. El análisis BLAST mostró 99 % de similitud con las secuencias depositadas en GenBank para *Colletotrichum musae*, obtenidos de otros hospedantes y países.

Esta secuencia confirma una afinidad de 99 % al ser comparada con HQ596284.1 y JX009432.1 del GenBank reportándolo como *Colletotrichum musae* y agente causal de la antracnosis en plátano en Tailandia (Su, *et al.*, 2011; Weir *et al.*, 2012). Además, Udayanga *et al.*, (2013), reportaron que en el norte de Tailandia se presentó *Colletotrichum musae* en plantas nativas de *Coffea arabica* y *Musa* sp.

De la misma forma el patógeno presentó una afinidad del 62 % con *Colletotrichum alienum* KJ954411.1 y *Colletotrichum gloeosporioides* KY954411.1 de GenBank (Figura 5). Tanto *C. musae* como *C. alienum* pertenecen al complejo *C. gloeosporioides* siendo un grupo de especies que se asemejan filogenéticamente al árbol del gen de *Colletotrichum* por medio de ITS, y

morfológicamente semejantes aunque no en todos los casos, ya existen 22 especies (Weir *et al.*, 2012).



**Figura 4.5.** Árbol filogenético de *Colletotrichum musae* alineados con las secuencias de la región Actina de varios hospederos y países registradas en GenBank.

### Pruebas de patogenicidad

El síntoma de ampolla se presentó en los chayotes asperjados con la suspensión de conidios de *Colletotrichum musae*, a partir de los 15 días después de la inoculación, los frutos poseían 15 cm de longitud (19 a 21 días de edad), mientras que los frutos asperjados con agua destilada estéril (testigo) no presentaron ningún síntoma de ampolla. Para comprobar, se tomaron fragmentos de fruto con y sin el síntoma y se sometieron en cámara húmeda, donde los frutos testigo no desarrollaron micelio (Figura 6).

Se ha reportado que la infección por *C. musae* está influenciado por factores como el pH, humedad y temperatura. Al Zaemey *et al.*, (1994) mencionan que bajo condiciones *in vitro* *C. musae* tuvo un desarrollo óptimo a un pH de 4 a 5 dependiendo de la temperatura, creciendo a una  $A_w$  0.94 a 0.99 entre 20-30 °C con la capacidad de producir aporesorios, y con un crecimiento óptimo a 30

° C y  $A_w$  0.995. Pérez y Vidal, (2002) reportaron que bajo condiciones ambientales de 20 a 30 °C favorecen la germinación de los conidios de *Colletotrichum musae*, siendo el óptimo 27 °C. Temperaturas inferiores a 20 °C reduce el crecimiento del micelio e inhiben fuertemente la germinación, siendo en el intervalo de 10-14°C que la germinación de los conidios sea inferior al 20 %.



**Figura 4.6.** Síntomas iniciales de ampolla presentado en frutos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) var. *virens levis* después de 15 días de ser asperjado con suspensión de conidios de *C. musae*.

La germinación de los conidios de *C. musae* se presenta antes de ocho horas a 20 y 35°C, y después de diez horas y media a 15 y 35°C, además requiere de la presencia de agua libre para la germinación de los conidios y alrededor del 100 % HR con un crecimiento óptimo de pH entre 5 y 7. Un factor importante que ha de tenerse en cuenta en el manejo de la enfermedad es el tiempo transcurrido entre la cosecha de la fruta y su entrada a las cámaras de refrigeración. El período de la incubación a temperaturas inferiores a 15 °C es de más de cinco días, por lo que es muy importante refrigerar la fruta lo más pronto posible (Pérez y Vidal, 2002).

*C. musae* requiere para la germinación de las esporas de la presencia de agua (Pérez y Vidal, 2002). Esto explica la mayor frecuencia de aislamiento de especies en los meses más lluviosos y calidos del año. La zona de producción de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) en Huatusco Veracruz está rodeada de una zona productora de café (*Coffea arabica* L.) y de plátano (*Musa* spp.), además de presentar un intervalo de temperaturas min-máx de 13-23 °C y con 90 a 94 % HR en verano (SMN,

2013), por lo que el fruto de chayote *var. virens levis* puede ser un hospedante adecuado toda vez que la pulpa tiene un pH casi neutro (6.7), posee un gran número de estomas ( $40 \pm 14 \text{ mm}^{-2}$ ) como vía de entrada de los apresorios de los hongos, así como una alta humedad del ambiente, todas estas condiciones propician el proceso de infección del patógeno (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2006; Pérez y Vidal, 2002).

#### 4.6. CONCLUSIONES

Se identificó a *Colletotrichum musae* como el hongo causante de ampolla en los frutos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) *var. virens levis* en la zona productora de Huatusco, Veracruz. Es posible que siendo los hospederos naturales de este hongo las plantas de café (*Coffea arabica*) y banano (*Musa* sp.) cultivadas en la región por muchos años, hayan desarrollado mecanismos de adaptación para infectar a la planta de chayote, particularmente al fruto. Por lo anterior es importante la aplicación de tratamientos que eviten la infección del hongo y mejorar las prácticas postcosecha que reduzcan su incidencia sobre el fruto.

#### 4.7. LITERATURA CITADA

- Avendaño-Arrazate, C.H., Cadena-Iñiguez, J., Arévalo-Galarza, M.L.C., Cisneros-Solano, V.M., Morales-Flores, F.J., Ruiz-Posadas, L. M. 2014. Mejoramiento genético participativo en chayote. *Revista Agroproductividad* 7 (6): 30-39.
- Cadena-Iñiguez J., Arévalo-Galarza M.L., Avendaño-Azarrate C.H., Soto M., Ruiz-Posadas L.M., Santiago E., Acosta-Ramos M., Cisneros-Solano V.M., Aguirre J.F. Ochoa D. 2007. Production, Genetics, Postharvest Management and Pharmacological Characteristics of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. *Fresh Produce*, Global Science Books 1:41-52.
- Cadena-Iñiguez J., Arévalo-Galarza, Ma. L., Olguín-Hernández G., Morales-Flores Francisco J., Trejo-Téllez Brenda I., Ruiz-Vera Victor M. 2016. Biosecurity system for quality and reduction viviparism chayotes export. 20th International Congress on Project Management and Engineering Cartagena, 13-15th July. 947 p.

- Cadena-Iñiguez, J., Arévalo-Galarza, L., Ruiz-Posadas, L. M., Aguirre-Medina, J. F., Soto-Hernández, M., Luna-Cavazos, M., Zavaleta-Mancera, H. A. 2006. Quality evaluation and influence of 1-MCP on *Sechium edule* (Jacq.) Sw. fruit during postharvest. *Postharvest Biology and Technology* 40(2): 170-176.
- Couto, Erick F., Menezes, Maria. 2004. Caracterização fisiomorfológica de isolados de *Colletotrichum musae*. *Fitopatologia Brasileira*, 29 (4): 406-412.
- Galindo-Leal C. 2017. Lo hecho en México ¿Y los mexicanos por naturaleza? Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Publicado 12 de agosto de 2016. Consultado 16 abril 2017. Disponible en: <https://www.gob.mx/conabio/articulos/lo-hecho-en-mexico?idiom=es>
- Jensen, L.P., and A.R. Lai. 1986. Chayote (*Sechium edule*) causing hypokalemia in pregnancy. *Am. J. Obst. and Gynecol.* 155: 1048-1049.
- Olguín-Hernández G., Cadena-Iñiguez, J., Arévalo-Galarza, M.L., Valdez-Carrasco, J., Rosas-Saito, G. H., Tlapal-Bolaños, B. 2017. Organismos Asociados al Chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw., en México. Colegio de Postgraduados. 1a edición. México. ISBN:978-607-715-340-5.
- Pérez, L., y Vidal, I. 2002. Aspectos de la biología de *Colletotrichum musae* (Berk. & Curt.) V. Arx y *Fusarium pallidroseum* (Cooke) Saccardo, agentes causales de la pudrición de la corona de los bananos (*Musa* sp.) en Cuba. *Fitosanidad* 6(1): 3-10.
- Rodríguez-López, E.S., González-Prieto, J.M., Mayek-Pérez, N. 2009. La infección de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. en aguacatero (*Persea americana* Mill.): Aspectos bioquímicos y genéticos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 27 (1): 53-63.
- Romero-Velázquez, S. D., Tlapal-Bolaños, B., Cadena-Iñiguez, J., Nieto-Ángel, D., Arévalo-Galarza, M.L. 2015. Hongos causantes de enfermedades postcosecha en chayote (*Sechium edule* (Jacq.) SW.) y su control *in vitro*. *Agronomía Costarricense* 39(2): 19-32.
- Schindeli J., T. Rueden C., C. Hiner M., and W. Eliceiri K. 2015. The ImageJ Ecosystem: An open platform for biomedical image analysis. *Molecular Reproduction and Development*. 82(7-8):518-529. DOI: 10.1002/mrd.22489
- SIAP. 2016. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera: Estadística de la producción agrícola 2016. Consultado el 13 febrero de 2018. Disponible en <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php>

- SMN (Sistema Meteorológico Nacional). 2013. Climatología Estadística del Centro Regional Huatusco, Veracruz, estación 30342. CONAGUA-DGE. Consultado el 21 de febrero de 2018. <http://smn1.conagua.gob.mx>
- Su, Y. Y., Noireung, P., Liu, F., Hyde, K. D., Moslem, M. A., Bahkali, A. H., & Cai, L. 2011. Epitypification of *Colletotrichum musae*, the causative agent of banana anthracnose. *Mycoscience* 52(6): 376-382.
- Sutton B.C. 1980. The Coelomycetes. Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. CMI, Kew. 691 p.
- Thangamani, P.R., Kuppasamy, P., Peeran, M. F., Gandhi, K., & Raguchander, T. 2011. Morphological and physiological characterization of *Colletotrichum musae* the causal organism of banana anthracnose. *World Journal of Agricultural Sciences* 7(6): 743-754.
- Weir, B. S., Johnston, P. R., & Damm, U. 2012. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology* 73: 115-180.
- Woudenberg JHC, Aveskamp MM, Gruyter J de, Spiers AG, Crous PW. 2009. Multiple *Didymella teleomorphs* are linked to the *Phoma clematidina* morphotype. *Persoonia* 22: 56–62.
- Salama, A. M., A. E. Polo, C.R. Contretras, L. Maldonado. 1986. Análisis fitoquímico preliminar y determinación de las actividades antiinflamatoria y cardíaca de los frutos de *Sechium edule*. *Rev. Colombiana Cien. Quím.-Farm.* 15: 79- 82
- Vargas, E. 1987. La vejiga del fruto, una nueva enfermedad del chayote (*Sechium edule* L.). *Nota técnica Agronomía Costarricense.* 12(1):123-126
- Alvarado, S., Saenz, M. V., Valverde, E. 1989. Evaluación de tratamientos poscosecha para la preservación de los frutos de chayote (*Sechium edule*). *Agronomía Costarricense.* 13: 35-43.
- Olguín-Hernández, G., Cisneros-Solano V.M. y Acosta-Ramos M. 2011. Hongos asociados a síntomas de enfermedades en chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) y estrategias de manejo. *Agroproductividad*, 4 (3): 16-23. ISSN-0188-7394
- Al Zaemey A. B., Magan N., Thompson A. K. 1994. *In vitro* studies of the effect of environmental conditions on the anthracnose pathogen of bananas, *Colletotrichum musae*. *International Biodeterioration & Biodegradation* 33(4): 369-381.