

**CENTRO DE INVESTIGACION EN
ALIMENTACION Y DESARROLLO, A. C.**

**Tolerancia del Mango (*Mangifera indica*) var. 'Keitt'
a**

Niveles Insecticidas de Oxígeno y su Efecto sobre el

Metabolismo Respiratorio Anaeróbico

por

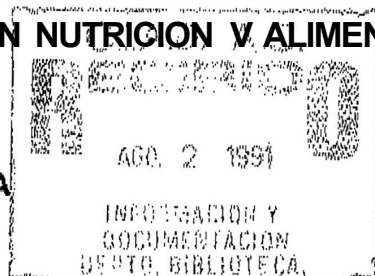
MARTIN ERNESTO TIZNADO HERNANDEZ

**Tesis aprobada por el
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
DE ORIGEN VEGETAL**

**Como requisito Parcial para Obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS**

EN NUTRICION Y ALIMENTOS

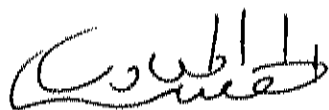
HERMOSILLO, SONORA



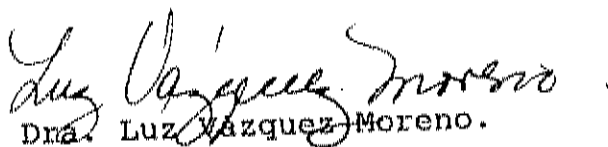
MAYO, 1991

APROBACION

Los miembros del comité designado para revisar la tesis de Martín Ernesto Tiznado Hernández, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias, con especialidad en Nutrición y Alimentos.



Dr. Elhadi M. Yahia.
Director de Tesis



Dra. Luz Vazquez Moreno.



M. en C. Ana Ma. Calderón de la Barca Cota.

M. en C. Ma. del Carmen Bermúdez Almada.

DECLARACION DEL AUTOR

Se permiten citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Se podrá solicitar permiso al Director del Centro o Jefe del Departamento de Nutrición y Alimentos del CENTRO DE INVESTIGACION EN ALIMENTACION Y DESARROLLO, A.C. Apartado Postal 1735, Hermosillo, Sonora, 83000, México, para citas o consultas más completas o para la reproducción íntegra del documento para fines académicos. En otras circunstancias, se deberá solicitar permiso del autor.

Firmado

MARTIN ERNESTO TIZNADO HERNANDEZ

AGRADECIMIENTOS

En este apartado del trabajo quiero agradecer a el **Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.** por toda la ayuda que me brindó durante la realización de todo el programa de maestría

Quiero hacer llegar por este conducto un reconocimiento muy merecido para el **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** por la ayuda económica que hizo posible que yo concluyera mis estudios de maestría.

A mi asesor, **Dr. Elhadi M. Yahia**, un sincero agradecimiento por la paciencia que tuvo para conmigo y por el ejemplo que me dió acerca de lo que puede llegar a realizarse mediante trabajo duro y constante, ejemplo que espero haber asimilado.

El trabajo no hubiera podido concluirse exitosamente sin la oportuna intervención de los investigadores que formaron parte de mi comité: **Dra. Luz Vázquez Moreno, M.C. María del Carmen Bermúdez y M.C. Ana María Calderón de la Barca.** Gracias por aceptar ser mis asesores.

Nunca olvidaré a todo el personal del **CIAD, A.C.**, ya que la agradable convivencia que tuve con ellos desde que empecé mi tesis de licenciatura hasta ahora fué algo muy constructivo para mí en muchos sentidos, sin considerar la parte académica; siento no poder mencionarlos a todos ya que cometería errores imperdonables. Gracias por todo y que el dios que espero algún día encontrar, los bendiga.

A todas aquellas personas que de una u otra forma han hecho posible que yo continúe viviendo y esforzándome quiero mandarles un profundo agradecimiento. Sería imposible que las mencionara ya que eso ha sido un proceso de toda la vida, pero de todos modos quiero hacerles saber desde aquí que estoy logrando algunas cosas que de cierto modo valen la pena. Gracias.

Aún no estoy seguro de que estes ahí señor, sin embargo, sé que sabes que aún guardo la esperanza viva de encontrarte algún día. Gracias por lo que inmerecidamente me has dado.

DEDICATORIA

A mis padres, **María del Carmen Hernández de Tiznado** y **Manuel Tiznado Farrell**, por haberme soportado y amado durante toda mi vida, lo cual hizo posible que haya logrado lo que hasta ahora soy; tal vez no sea mucho, pero el esfuerzo que ha implicado el proceso ha sido muy grande.

A mis hermanos, **María del Carmen**, **José Manuel** y **Gustavo** por todos los momentos que hemos compartido juntos

Para mi novia **María del Carmen** con cariño, ya que ha seguido conmigo todo el arduo camino que he recorrido en los últimos años, y me ha podido soportar con paciencia y amor. Espero que los problemas que nos han aquejado durante todo el pasado ya los hayamos superado y podamos permanecer juntos.

Quiero dedicar también este trabajo para alguien con quien me he sentido muy identificado por todo lo que compartimos juntos: sueños, esperanzas y horas de arduo trabajo.

Para mis compañeros del programa de maestría, por los momentos de trabajo y esparcimiento que compartimos y por todo lo que me enseñaron. Nunca los olvidaré.

A el M.C. **Fernando Juvera Morales**, por la gran paciencia que me ha tenido y por todo lo que me ha enseñado. Gracias.

CONTENIDO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE CUADROS.....	x
RESUMEN.....	xi
INTRODUCCION.....	1
OBJETIVOS.....	4
REVISION BIBLIOGRAFICA.....	6
Efecto de las Atmósferas Controladas Sobre los Posibles Factores de Deterioro en Vegetales Almacenados.....	6
Cambios Metabólicos.....	8
Biosíntesis y Acción de Etileno.....	10
Cambios en Composición.....	12
Color.....	12
Textura.....	14
Sabor.....	16
Valor Nutritivo.....	18
Crecimiento y Desarrollo.....	19
Daños Físicos.....	20
Pérdidas de Agua.....	20
Desórdenes Fisiológicos.....	21
Daños Patológicos.....	22

CONTENIDO (Cont.)

	Página
Efectos de las Atmósferas con Altas Concentraciones de CO ₂ Sobre la Actividad de las Enzimas del Ciclo de Krebs.....	25
Tratamientos Cuarentenarios en Frutas.....	28
Fumigantes.....	29
Agua Caliente.....	31
Vapor Caliente.....	34
Aire Forzado a Alta Temperatura.....	35
Tratamiento con Frío.....	36
Irradiación.....	37
Atmósferas Controladas.....	43
MATERIALES Y METODOS.....	50
Materia Prima.....	50
Manejo del Producto antes del Almacenamiento.....	50
Almacenamiento del Mango y Evaluación Física.....	51
Medición de la Velocidad Respiratoria.....	51
Medición del O ₂ y CO ₂ en la Atmósfera Controlada.....	52
Muestreo de las Frutas y Evaluación Física.....	52
Evaluación Sensorial.....	53

CONTENIDO (Cont.)

	Página
Medición de la Actividad Enzimática.....	55
Preparación de la Muestra.....	55
Preparación del Extracto de la Fruta.....	55
Técnicas Utilizadas para la Medición de la Actividad Enzimática.....	56
Actividad Específica.....	57
Efecto de la Liofilización Sobre la Actividad Enzimática.....	58
Determinación de Proteínas.....	58
Análisis Estadísticos.....	58
RESULTADOS.....	60
Composición de la AC y su Efecto Sobre la Calidad de la Fruta.....	60
Análisis Sensorial.....	66
Actividad Enzimática.....	69
Efecto de la Liofilización Sobre la Actividad Enzimática.....	77
DISCUSION.....	79
Evaluación Sensorial.....	84
Actividad Enzimática.....	86
CONCLUSIONES.....	104
BIBLIOGRAFIA.....	106

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Fluctuaciones en el Porcentaje de O ₂ y CO ₂ , en la Atmósfera Controlada..	61
2	Velocidad de Respiración (mL CO ₂ /kg-hr) de la Fruta en Aire y en Atmósfera Controlada.....	62
3	Porcentajes de Pérdida de Color Verde en Frutas en Aire y en Atmósfera Controlada. Las Líneas verticales indican la diferencia mínima significativa	63
4	Porcentaje de Pérdida de la Textura en Frutas en Aire y en Atmósfera Controlada. Las líneas verticales indican la diferencia mínima significativa	65
5	Porcentaje de Pérdida de Peso en Frutas en Aire y en Atmósfera Controlada. Las líneas verticales indican la diferencia mínima significativa	67
6	Resultados de la Evaluación Sensorial: Aroma, Sabor y Textura.....	68
7	Resultados de la Evaluación Sensorial: Color de Cáscara y Pulpa; Aceptabilidad General.....	70
8	Fluctuaciones en la Actividad Específica de la Malato Deshidrogenasa. Las líneas verticales indican la diferencia mínima significativa.....	71
9	Fluctuaciones en la Actividad Específica de la Isocitrato Deshidrogenasa. Las líneas verticales indican la diferencia mínima significativa.....	73
10	Fluctuaciones en la Actividad Específica de la α -cetoglutarato Deshidrogenasa. Las líneas verticales indican la diferencia mínima significativa.....	74
11	Fluctuaciones en la Actividad Específica de la Succinato Deshidrogenasa. Las líneas verticales indican la diferencia mínima significativa.....	76
12	Adaptación del Ciclo de Krebs a Condiciones Anaeróbicas.....	94

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Tolerancia Relativa de Frutas Frescas y Vegetales a el Stress Provocado Dosis de Radiación < 1KGy.....	39
2	Efecto de la Liofilización Sobre la Actividad Enzimática (UI/mg Protefna) de α -cetogluturato Deshidrogenasa, Isocitrato Deshidrogenasa y Malato Deshidrogenasa.....	78

RESUMEN

Las atmósferas controladas son tratamientos que aumentan la vida de anaquel de frutas y hortalizas. Constituyen un tratamiento cuarentenario alternativo al uso de productos químicos. Se evaluó la tolerancia de mango a atmósferas controladas (AC) con niveles insecticidas de oxígeno (0.2-0.3%), de 0 a 5 días a 20° C. Se muestreó diariamente, evaluándose la fruta inmediatamente al salir del tratamiento y cinco días después de su traslado a aire, midiéndose la velocidad de respiración diariamente, tanto en las frutas control (Aire) como en las frutas bajo AC. A 15 días de iniciado el experimento, se efectuó un muestreo general y una evaluación sensorial. En cada muestreo, tres frutas fueron congeladas y liofilizadas para los análisis bioquímicos consistentes en la medición de la actividad enzimática (UI/mg de Proteína) de malato deshidrogenasa (MDH), isocitrato deshidrogenasa (IDH) alfa-cetoglutarato deshidrogenasa (ACGDH) y succinato deshidrogenasa (SDH) y seis frutas fueron evaluadas en pérdida de peso (PP) y pérdida de color verde (PCV), así como firmeza en pulpa (FP). Se encontró que la AC disminuye la velocidad de respiración y retarda la PCV en cáscara, de textura en pulpa y disminuye las PP. También se observaron disminuciones en la actividad enzimática de MDH e IDH.; sin embargo, con el traslado a aire la actividad enzimática de las frutas control y bajo AC fué la misma, con lo que se puede considerar que el vegetal retomó a la normalidad una vez retirado del tratamiento. Reafirmando lo anterior, la evaluación sensorial no encontró olores, sabores desagradables o daños al vegetal. Se concluye que el mango es muy tolerable a este tratamiento, por lo que puede ser utilizado para el control de insectos en postcosecha.

INTRODUCCION

Las frutas y hortalizas después de cosecharse continúan sus procesos metabólicos normales (Ryall y Pentzer, 1982; Duckworth, 1966). Estos agotan las reservas de nutrimentos debido a que el vegetal no recibe los suplementos de agua, minerales o en algunos casos, de productos orgánicos que normalmente eran transportados de otras partes de la planta; lo cual provoca pérdida de humedad, textura, y en general de apariencia fresca en un tiempo relativamente breve, con lo que su vida de anaquel se ve reducida (Salunkhe y Desai, 1984; Duckworth, 1966). Estos cambios suceden de forma mas o menos pronunciada, dependiendo del manejo postcosecha a que se someta la fruta u hortaliza. En general, en países subdesarrollados se reportan pérdidas enormes de los productos hortícolas (Anónimo, 1978). Para evitar estas pérdidas se han utilizado diversas técnicas de conservación, donde destacan el uso de temperaturas bajas con control de la humedad relativa. Sin embargo, frecuentemente éstas no son suficientes por lo que son necesarios tratamientos complementarios con fungicidas, bactericidas, insecticidas, ceras, reguladores de crecimiento, etc (Shewfelt, 1986). Desafortunadamente, estas sustancias químicas dejan residuos (Navarro, et al., 1988) que pueden provocar problemas de salud para el consumidor (Olmstead, 1984; Biehl y Buck, 1987). Por lo tanto, es necesario desarrollar tratamientos físicos alternativos al uso de químicos

para evitar las pérdidas conservando al mismo tiempo los productos hortícolas en estado fresco.

El almacenamiento de frutas frescas en atmósferas controladas (AC), técnica donde se somete el producto a ambientes con niveles elevados de dióxido de carbono (CO_2) y/o bajos de oxígeno (O_2); constituye una alternativa importante, debido a que no provoca contaminación química y sólo retarda el proceso natural de maduración y senescencia de productos cosechados, preservándolos en óptimas condiciones de consumo por mas tiempo (Isenberg, 1979; Kader, 1980). Además, se ha encontrado que no es mas costosa que el uso de fumigantes (Soderstrom, *et. al.*, 1984). Aunado a lo anterior, una de las características mas importantes que posee es su potencialidad para el control de varios insectos en postcosecha con el uso de muy bajos niveles de O_2 (<1.0%) y/o muy altos de CO_2 (>50%) (Gaunce, *et. al.*, 1982; Jay, 1984). Estos niveles de O_2 y CO_2 son muy extremos y es posible que la fruta no los tolere por largo tiempo. Se ha encontrado que pueden provocar efectos indeseables como el desarrollo de sabores y olores desagradables, maduración irregular, etc., resultando en la pérdida del producto (Morris y Kader, 1977; Zagory y Kader, 1989). Hay una gran variabilidad en el nivel de tolerancia de las diferentes frutas, por lo que es difícil predecir una respuesta por parte del vegetal (Morris y Kader, 1977).

Por otra parte, se han tratado de explicar las causas de los efectos negativos provocados por las AC, como posibles cambios en el metabolismo respiratorio del producto (Burton, 1974; Solomos, 1982), acumulación de ácidos orgánicos (Hulme, 1956), cambios en la membrana mitocondrial (Frenkel y Patterson, 1974) y variaciones en el pH interno de las células (Siripanich y Kader, 1986).

Es muy poco lo que se conoce acerca de los efectos de las AC a nivel metabólico, debido a que la mayoría de los trabajos que se han hecho hasta ahora se han dirigido a describir los efectos externos y a encontrar condiciones óptimas de almacenamiento (Kader, 1986), sin tratar de elucidar cambios a nivel bioquímico o fisiológico que tal vez ofrezcan una respuesta más confiable y repetible. Debido a lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la tolerancia del mango (*Mangifera indica*) var 'Keitt' a niveles insecticidas de O_2 (<0.5%), y su efecto sobre la actividad de algunas enzimas del ciclo de Krebs.

OBJETIVOS

Evaluar el efecto del almacenamiento por cinco días en una atmósfera controlada (AC) de bajo oxígeno (0.2-0.3%), sobre la velocidad de maduración de mango (*Mangifera indica*) var. 'Keitt' mediante la determinación de la velocidad de respiración, pérdida de color verde y pérdida de firmeza.

Determinar el efecto residual posterior al almacenamiento en AC, sobre la velocidad de maduración de mango, utilizando la medición de la pérdida de color verde y firmeza como índices de maduración.

Estudiar los cambios en el metabolismo del ciclo de Krebs, durante el almacenamiento en AC mediante la medición de las fluctuaciones en actividad enzimática de malato deshidrogenasa, isocitrato deshidrogenasa, alfa-cetoglutarato deshidrogenasa y succinato deshidrogenasa.

Evaluar el efecto residual posterior al almacenamiento en AC, sobre el metabolismo del ciclo de Krebs, a través de la determinación de actividad de las enzimas malato deshidrogenasa, isocitrato deshidrogenasa, alfa-cetoglutarato deshidrogenasa y succinato deshidrogenasa.

Determinar los efectos organolépticos en la fruta debidos al almacenamiento en la atmósfera controlada.

REVISION BIBLIOGRAFICA

Efecto de las Atmósferas Controladas Sobre los Posibles Factores de Deterioro en Vegetales Almacenados

El primer término técnico usado para referirse a tratamientos que involucraban la regulación de gases como el CO₂ y O₂ en la atmósfera fué el de "almacenamiento en gases". Mencionado por primera vez por Kidd y West, fué abandonado en los últimos años de la década de los 40's debido a que daba pié a malentendidos. El término usado actualmente es el de "almacenamiento en atmósferas controladas (AC)", que fué sugerido por primera vez por W.R. Phillips (Smock, 1979).

Las atmósferas controladas, son tratamientos desarrollados para el almacenamiento de productos muy perecederos, como frutas y vegetales, en cámaras donde existe una composición alterada de gases en el ambiente (Wills, *et al.*, 1981; Shewfelt, 1986); usualmente ésta es controlada en un rango de $\pm 1\%$. El uso comercial de este tipo de almacenamiento empezó con una investigación realizada por los ingleses Kidd y West en los años veinte, donde se encontró que ciertas variedades de manzana podían mantenerse en condiciones óptimas por un período prolongado de tiempo si se almacenaban en cámaras con menos oxígeno y mas CO₂ que el aire (Lipton, 1980). Actualmente se sabe que el uso de este método de almacenamiento no es sencillo ya que la respuesta varía con

los diferentes vegetales; incluso se reportan diferencias en variedades de una misma fruta (Kader y Morris, 1977).

La idea de que los efectos benéficos que provoca un nivel bajo de oxígeno y/o alto de CO_2 reduciendo la velocidad de respiración es la causa principal del mejoramiento en el almacenamiento de frutas y vegetales no es correcta del todo, ya que existen otros factores que potencialmente pueden provocar deterioración del producto en postcosecha; a saber: cambios metabólicos (metabolismo respiratorio, biosíntesis de etileno y cambios de composición), crecimiento y desarrollo (cambios anatómicos y morfológicos), daños físicos, pérdidas de agua, desórdenes fisiológicos y patológicos (Kader, 1986). En todos los factores mencionados anteriormente, las atmósferas controladas pueden tener algún tipo de efecto, el cual veremos a continuación.

Es importante puntualizar antes de continuar, que con el uso de las atmósferas controladas sólo se puede aspirar a mantener la calidad del producto obtenido en la cosecha por un tiempo mayor del que normalmente ocurre (Isenberg, 1979), por lo que es importante un buen manejo postcosecha del vegetal para evitar los daños por maltrato o por exposición prolongada a altas temperaturas.

Cambios Metabólicos

Si se disminuye el nivel de oxígeno en la atmósfera de almacenamiento de frutas y vegetales, es posible reducir la velocidad de respiración. Un estudio realizado con calabaza var. 'Zucchini' encontró que la velocidad de respiración de este producto disminuía progresivamente conforme los niveles de O_2 se disminuyeron de la siguiente forma: 21%, 8%, 4%, 2% y 1%; además, conforme disminuía la temperatura de 10°, 5° y 2.5° C, se observó también una disminución progresiva en la velocidad de respiración medida mediante la producción de CO_2 (Mencarelli, et al., 1983). Papas cv. 'Russet Burbank' mostraron un comportamiento parecido a el anterior, disminuyendo la producción de CO_2 y el consumo de oxígeno conforme se disminuyó la concentración de O_2 desde 20% hasta 0%; además la velocidad de producción de CO_2 y de utilización de O_2 aumentaron conforme se aumentó la temperatura (Workman y Twomey, 1967). Comportamientos similares se mostraron durante el almacenamiento de arándano agrio (Anderson, et al., 1963) y en peras cv 'Anjou' y 'Packman's Triumph', aunque en este último experimento solo se varió la concentración de oxígeno (Blanpied y Hansen, 1968). Como se observa, con el uso de las atmósferas controladas generalmente se ha encontrado una disminución importante en la velocidad de respiración, lo que implica un retrasamiento de los cambios metabólicos que se están produciendo en el vegetal en ese momento (Duckworth, 1966) y entonces, un aumento de la

vida postcosecha del vegetal. En general, la concentración de 1-3% de oxígeno en la atmósfera rodeando a la fruta es necesaria para impedir que el ciclo de Krebs se detenga completamente y se lleve a cabo la respiración anaeróbica como el único proceso productor de energía lo que puede provocar olores indeseables y daños en el tejido (Burton, 1974); principalmente debido a la acumulación de compuestos como acetaldehído y etanol, como se ha visto en manzanas 'Newton Wonder' (Thomas, 1925; Thomas, 1931); en peras (Yahia, *et al.*, 1991a); en aguacate (Yahia, *et al.*, 1991b) y en fresas 'Selva', donde se encontraron aumentos en la producción de etanol al disminuir el porcentaje de O₂ de 2.0%, 1.0% y 0.5% (Li y Kader, 1989); en vaccinios var. 'Harrison', 'Jersey' y 'Premier' se observaron aumentos en la producción de etanol conforme se aumentaba la temperatura, de 0 a 30° C, en atmósferas anaeróbicas (Saltveit y Ballinger, 1983). Este hecho provoca el desarrollo de olores y sabores desagradables dependiendo de el producto. Brócoli es particularmente susceptible a desarrollar sabores y olores desagradables por efecto de las atmósferas controladas (Kasmire, *et al.*, 1974).

El paso de la respiración aeróbica a anaeróbica puede ser monitoreada por la producción de CO₂, donde se observa un aumento en la cantidad producida de este gas a muy bajas concentraciones de oxígeno. El fenómeno es conocido como efecto Pasteur (Smock, 1979). Es importante mencionar que este fenómeno sólo ocurre a niveles de oxígeno sumamente bajos dentro de la célula vegetal

(0.2%) (Kader, 1986), ya que la constante de Michaelis para la enzima citocromo oxidasa es muy pequeña y eso hace que con concentraciones sumamente bajas de oxígeno pueda estar trabajando a velocidades muy altas (Solomos, 1982).

Biosíntesis y Acción de Etileno

Un nivel menor a 8% de oxígeno puede disminuir la producción de etileno de frutas frescas y vegetales, así como la sensibilidad a este último (Kader, 1986). Esto se debe probablemente a que se reduce la producción autocatalítica de etileno (Lipton, 1980), aunque la razón principal es el hecho de que el oxígeno es necesario para el último paso de la biosíntesis de este gas (Yang, 1985).

Por otra parte, niveles elevados de CO_2 pueden reducir, aumentar o no tener efecto sobre la producción de etileno en algunas frutas; esto debido a el tipo de producto y a la concentración de CO_2 de que se trate (Kader, 1986). Al parecer, el CO_2 puede tener efecto sólo cuando su nivel es tan alto como para causar daños al vegetal. Así, tenemos que la okra sometida a niveles de 10% CO_2 y 5% de O_2 , mostró una producción menor de etileno (Baxter y Waters, 1990). En el tomate var. 'Traveler' se disminuyó la producción de etileno cuando fué sometido a atmósferas que contenían 5, 10 ó 20% de CO_2 (Buescher, 1979); otros productos que muestran reducciones en la producción de etileno por tratamientos con elevados niveles de CO_2 (60%), son el brócoli y durazno. El

plátano es una fruta que muestra aumentos en la producción de etileno por tratamientos con 60% de CO₂ (Kubo, *et al.*, 1990). Por otra parte, en un estudio realizado en manzanas "Granny Smith", se observó una reducción en la producción de etileno cuando las frutas se sometían a una atmósfera conteniendo 20% de CO₂ por 2 horas (Chavez y Thomas, 1984); esto mismo se observó en peras 'Bartlett' cuando se sometieron a una atmósfera de aire + 5% de CO₂ y aire + 20% de CO₂ (Chavez y Kader, 1990). No se conoce la naturaleza exacta del fenómeno, pero se considera que cuando ocurren aumentos en la producción de etileno, el CO₂ está provocando algún tipo de daño al producto y no se sabe si se debe al cambio de una condición aeróbica a una anaeróbica o a algún otro tipo de mecanismo (Kader, 1986). Ahora bien, es importante tener en cuenta que aun con el uso de atmósferas controladas puede ocurrir acumulación de etileno, aunque en cantidades menores por la baja concentración de oxígeno atmosférico, sobre todo en frutas que naturalmente producen mucha cantidad de esta hormona, como manzana en maduración, pera, aguacate, chirimoya y kiwi (Kader, 1986).

Cambios en Composición

Color. Esta característica se altera por la pérdida de clorofila y la biosíntesis de carotenoides y antocianinas. Se ha observado que las atmósferas controladas pueden mantener el color verde de los espárragos por un tiempo mas prolongado (Berrang, et al., 1990); en los tomates mantenidos en 1% de O_2 , se logró retardar la pérdida de clorofila por 60 días comparado con el control. En general, el uso de 3% y 10% de oxígeno, retardó cada vez menos la pérdida de clorofila (Sahunkhe y Wu, 1973); la col de bruselas mantenida en 10% de CO_2 pudo mantener mejor el color verde sin sufrir algún tipo de daño (Lyons y Rappaport, 1962); manzanas 'McIntosh' almacenadas en atmósferas de 3% de O_2 y 3-5% de CO_2 lograron mantener un color verde mas pronunciado durante 90 días (Bramlage, et al., 1966); tomates 'Walter' almacenados a concentraciones de oxígeno de 2.5%, lograron mantener un color mas verde en la fruta con respecto a frutas bajo un tratamiento de 5 y 20% de oxígeno durante el mismo período de tiempo (Kim y Hall, 1976); el brócoli y coliflor pueden mantener por mas tiempo el color verde bajo atmósferas controladas (Berrang, et al., 1990); la col de bruselas conserva por mas tiempo el color verde cuando es almacenada a niveles muy bajos de oxígeno (0.5%, 1.0% y 2%) (Lipton y Mackey, 1987). En la col china almacenada a 1% de O_2 se redujo la pérdida de clorofila y el amarillamiento de las hojas (Wang, 1983); las peras 'Bartlett' mantenidas en aire + 5% CO_2 y aire + 20% de CO_2 por 11 días, permanecieron

mas verdes con respecto al control (Chavez y Kader, 1990); las peras 'Bartlett' almacenadas durante 10 días en atmósferas con 1, 0.5 y 0.25% de O_2 ó durante 4-6 días en 20, 50 y 80% de CO_2 , permanecieron mas tiempo con el color verde en cáscara (Ke, et al., 1990); los espárragos almacenados en diferentes combinaciones de oxígeno y CO_2 retuvieron la cantidad de clorofila prácticamente constante (Wang, et al., 1971); cerezas cv. 'Bing' conservaron un color mas verde en el pedúnculo y un color en el fruto mas brillante, cuando fueron almacenadas en 0.05-2.0% de O_2 (Chen, et al., 1981); en otro estudio realizado en brócoli, se encontró que con niveles de 0 a 2.5% de O_2 , es posible mantener el producto con el color verde durante mas tiempo (Morris y Hardenburg, 1954).

El almacenamiento de tomate en 2.5-4% de oxígeno + 4% de CO_2 por mas de dos meses provocó reducción en la pérdida de clorofila y síntesis de licopeno (Goodenough y Thomas, 1980).

Por otro lado, no todo es positivo y se ha observado que pueden ocurrir efectos negativos en color cuando los vegetales en estado verde-maduro que han sido almacenados en atmósferas controladas, son transferidos al aire; tal es el caso de tomates mantenidos en 5% de CO_2 (Kader, 1986). Además de lo anterior, se ha encontrado que el encafecimiento de superficies de vegetales expuestas, provocado por enzimas de baja afinidad al oxígeno, puede ser disminuído con muy bajas concentraciones de éste; esto es debido posiblemente

al hecho de que para poder llevar a cabo su acción, estas enzimas requieren cantidades de oxígeno dentro de ciertos límites (Kader, 1986); tal es el caso de champiñones var 'Lange', donde los niveles de oxígeno de 0% inhiben la actividad de la o-difenol oxidasa, y consecuentemente el desarrollo de manchas en la piel de este producto (Murr y Morris, 1974); en lechuga mantenida en 1.5% de O_2 , se ha encontrado un decremento en la actividad de la enzima ácido indol-3-acético oxidasa y sobre el metabolismo de fenoles, hechos que se supone son parcialmente responsables de la disminución en el desarrollo de manchas color canela (Ke y Saltveit, 1989).

Textura. Las atmósferas controladas pueden retardar la maduración de frutas y el ablandamiento de la pulpa que acompaña a este proceso. En un experimento almacenando brócoli en 10% de CO_2 , se logró retardar el desarrollo de una textura inadecuada e incluso se obtuvo un brócoli mas tierno que al momento de la cosecha (Lipton y Harris, 1974); peras 'Anjou' mantenidas durante 223 días ya sea en atmósferas de 5, 10, 15 y 20% de CO_2 o de 1, 2.5 y 5% de O_2 , presentaron una firmeza mucho mayor que los controles (Hansen, 1957).

El almacenamiento de albaricoque var 'Moorpark' y 'Large Early Montgamet' y de durazno var 'Elberta' en atmósferas de 0% de CO_2 + 5% de O_2 , 2.5% CO_2 +5.0% de O_2 y 10.0% de CO_2 + 5% de O_2 redujo durante 60 días la velocidad de ablandamiento de las frutas con respecto al control en aire (Wankier y

Campbell, 1970); el mantenimiento de fresas 'Selva' en atmósferas de 0.5% de O_2 , 20% de CO_2 , o una combinación de ambos tratamientos, mejoró la firmeza de la fruta progresivamente, con el aumento en el número de días de tratamiento, lo significa que se retardó la pérdida de firmeza mucho mejor con respecto a las frutas en aire (Li and Kader, 1989); el almacenamiento de peras 'Bartlett' en atmósferas de 0.25, 0.5 y 1.0% de O_2 o de 20, 50 y 80% de CO_2 a 0, 5 y 10° C, logró mantener por mayor tiempo la firmeza de la fruta con respecto a la que fué almacenada en aire; este efecto fué mas pronunciado en la temperatura de 10° C (Ke, et al., 1990).

En algunos trabajos se ha encontrado que la baja concentración de O_2 , puede evitar en mayor grado la pérdida de firmeza de la fruta con respecto a otra atmósfera controlada; así, manzanas 'Spartan' mostraron una mejor retención de la firmeza cuando fueron almacenadas a 1.0%, de O_2 + 2.0% de CO_2 con respecto a un almacenamiento en 2.5% de O_2 + 2.0% de CO_2 (Lau, 1983); lo mismo sucedió con manzanas 'McIntosh' cuando fueron almacenadas a 1.0% de O_2 + 1.5% de CO_2 comparadas con un almacenamiento a 5% de CO_2 + 2.8% de O_2 (Lidster, et al., 1981). Además del efecto de la concentración de oxígeno *per se*, la velocidad con la que ésta se alcanza dentro de la cámara de almacenamiento, puede afectar la firmeza de la fruta; efectivamente, en manzana 'Golden Delicious' sometida a una rápida disminución de oxígeno hasta 2.5%, se presentó una firmeza 1 a 2 kg. superior a las manzanas sometidas a un

almacenamiento convencional donde el tiempo para alcanzar la misma concentración de oxígeno es de 20 a 25 días (Lau y Looney, 1982); en otro experimento, manzanas de las variedades 'Golden Delicious', 'McIntosh', 'Spartan' y 'Delicious' sometidas a un procedimiento rápido para bajar la concentración de O_2 hasta 2.5%, mostraron mayor firmeza con respecto a las manzanas almacenadas en un procedimiento donde la concentración de oxígeno fué disminuída de forma lenta (Lau, 1983).

Sabor. Los cambios en carbohidratos, ácidos orgánicos, proteínas, aminoácidos y compuestos fenólicos pueden influir el sabor. En un experimento almacenando cerezas dulces var 'Lambert' en 10.5% de CO_2 y 2.5% de oxígeno, se encontró cantidades mas altas de ácidos alfa-aminobutírico y málico con respecto a las frutas mantenidas en aire (Singh, et al., 1970). En peras, un almacenamiento en 2% de CO_2 y 2% de oxígeno redujo las pérdidas de acidez, siendo el ácido málico el principal afectado (Li y Hansen, 1964); cuando se almacenó col de bruselas en 0.5% de O_2 , ocasionalmente se desarrollaron sabores amargos (Lipton y Mackey, 1987); el brócoli almacenado en concentraciones de oxígeno de 0.5 y 1.0%, mostraron un mejor sabor al ser cocinados, mientras que cuando se utilizó en el almacenamiento concentraciones de O_2 de 0.25% menos, se observó el desarrollo de sabores desagradables (Lipton y Harris, 1974); exposición de coliflor a atmósferas con 15% de CO_2 , desarrollaron olores desagradables al cocinarse, que fueron eliminados

con exposición durante seis horas en aire normal antes de el cocinado (Lipton, et al., 1967); el almacenamiento de peras 'd'Anjou' durante siete meses en concentraciones variables de oxígeno, mostró una mejor retención de la calidad de la fruta con concentraciones de O_2 menores o iguales a 1.5% (Mellenthin, et al., 1980); sabores amargos se desarrollaron en la calabaza 'Zucchini' en almacenamientos de dos semanas a 10°C, en aire, o después de un almacenamiento a 8% de O_2 ; por otra parte, un almacenamiento a 2.5° C, produjo un sabor dulce en el producto (Mencarelli, et al., 1983); manzanas 'McIntosh', almacenadas durante seis meses o mas en concentraciones de oxígeno de 1.0-1.2% y 2.2-2.4%, no encontró diferencias importantes en cuanto al sabor de la fruta (Lau, et al., 1986). Goodenough y Thomas (1981) encontraron que el almacenamiento en atmósferas controladas de tomates redujo la pérdida de azúcares y ácidos orgánicos. Una investigación llevada a cabo con tres variedades de manzana, dos de ellas mantenidas a 2% de oxígeno y <1% de CO_2 y la restante a 1% de oxígeno y <1% de CO_2 , que fueron colocadas luego a temperaturas de 40°C y 70°C; mostró que la fruta almacenada al mas bajo nivel de oxígeno y a la mas baja temperatura después de este almacenamiento fué menos dulce (Williams y Langron, 1983). El almacenamiento de rábanos en atmósferas de 0.5% de oxígeno durante 15 días o de 0.25% de oxígeno durante 10 días, desarrollaron sabores desagradables como síntoma inequívoco de daño por baja concentración de O_2 (Lipton, 1972). El sabor astringente en pèrsimos es una

característica que disminuye la calidad de la fruta; las atmósferas controladas donde se usan niveles elevados de CO_2 , han logrado removerlo en las variedades 'Hiratanenashi' (Matsuo e Ito, 1977), 'Hachiya' (Eaks, 1967) y 'Triumph' (Guelfat-Reich, et al., 1975).

Durante el almacenamiento de frutas en AC, la producción de compuestos volátiles del aroma y sabor pueden acumularse en gran cantidad, lo que se ha sugerido es posible que provoque detrimentos en la calidad del producto; los estudios que se han hecho para tratar de conocer como son afectados debido a la AC en manzanas 'Cortland' y 'McIntosh' sometidas a una atmósfera de 3% de O_2 , 3% de CO_2 y 96% de N_2 , han encontrado supresión en la síntesis de tres de ellos: butilhexanoato, propilbutanoato y hexilhexanoato; además, se observó que algunos fueron parcialmente suprimidos debido a la AC (Yahia, et al., 1990b).

Valor Nutritivo

Este factor es sumamente importante ya que determina la calidad del producto considerándolo en términos de un aportador de nutrimentos. Se han hecho pocos trabajos acerca de este punto; y se ha visto una mejor retención de ácido ascórbico en espinacas almacenadas en 4% de oxígeno y 9% de CO_2 con respecto a los vegetales almacenados en aire que perdieron 50% mas de este nutrimento aproximadamente (McGill, et al., 1966); almacenamiento de col

china 'Kyoryoku 60' en 1% de O₂ y 0° centígrados, logró reducir la pérdida de ácido ascórbico, con respecto al almacenamiento del producto en aire (Wang, 1983). Sin embargo, en algunas ocasiones no se ha encontrado un efecto benéfico sobre la retención de la vitamina C en vegetales almacenados en la AC, tal es el caso de naranjas 'Valencia', sometidas a tratamientos de 0.02, 0.25 y 0.5% de O₂ por 20 días o a 60% de CO₂ durante 14 días (Ke y Kader, 1990) y fresas 'Selva' almacenadas durante cuatro días a concentraciones de O₂ de 0.5, 1.0 ó 2.0% ó concentraciones de CO₂ de 10, 15 y 20% y sus combinaciones (Li y Kader, 1989).

Crecimiento y Desarrollo

Las atmósferas controladas pueden retardar o evitar totalmente la germinación de las raíces en ciertos vegetales, fenómeno que provoca reducción en la utilización del vegetal, aceleración de la deterioración y en algunos productos, decremento en su palatabilidad (Kader, 1986). En la zanahoria almacenada en 6% de CO₂ mas 3% de oxígeno y 10% de CO₂ mas 3% de oxígeno, se encontró que impedía el brotamiento de raíces, lo que indicaba una disminución en la velocidad de crecimiento (Isenberg, 1979). En otra investigación llevada a cabo con cebolla 'Wolsica', se encontró que era posible detener el nacimiento espontáneo de raíces durante 224 días con 10% de CO₂ mas 3% de oxígeno (Adamicki y Kepka, 1974).

Daños Físicos

Las deterioraciones físicas mas importantes que puede experimentar el vegetal son: daño de superficies, magulladuras por golpes y magulladuras por vibración. Todas estas pueden provocar mayor pérdida de agua, aceleran infecciones fungales y estimulan la producción de etileno (Isenberg, 1979; Kader, 1986). Es claro que las atmósferas controladas no tienen un efecto directo sobre este problema, sin embargo, se ha observado que ya que el vegetal esta dañado, ciertas combinaciones de atmósferas controladas pueden inhibir o al menos reducir el encafecimiento del producto debido a sus efectos sobre el metabolismo de los fenoles (Kader, 1986).

Pérdidas de Agua

Este factor es importante porque provoca pérdidas en peso, deterioración de la apariencia general, cambios en textura y en calidad nutricional del vegetal (Kader, 1986). Las atmósferas controladas, no actúan directamente influenciando la velocidad de pérdida de agua, sin embargo, pueden reducir la formación de peridermo en productos como papas y camotes, con los que los hacen mas susceptibles a una mayor pérdida de agua (Kader, 1986).

Desórdenes Fisiológicos

Frutas y vegetales frescos sufren numerosos desórdenes fisiológicos por la exposición a temperaturas indeseables y/o niveles de etileno y atmósferas modificadas. Estos desórdenes pueden ser aumentados, inducidos o reducidos con la aplicación de atmósferas controladas (Kader, 1986). Se ha observado que el daño que provoca las altas cantidades de CO_2 y bajas de oxígeno ocurren mayormente en tejidos sin clorofila. Una investigación realizada con coliflores encontró que una atmósfera con 5% de CO_2 y 10% de oxígeno puede provocarles daños, mientras que el brocoli puede soportar muy bien hasta 10% de CO_2 y 0.25% de oxígeno (Lipton, 1977).

El uso de elevadas concentraciones de CO_2 (5-20%) ha hecho posible observar una reducción en la severidad de los síntomas de daño por frío en algunos vegetales como okra, chilepimiento, aguacate y durazno (Kader, 1986).

Por otra parte, cuando se exponen frutas y vegetales a niveles de oxígeno y CO_2 por debajo y por encima de los límites máximos de tolerancia, pueden ocurrir una serie de desórdenes fisiológicos inducidos por este estado, como son: maduración inadecuada de frutas climatéricas como tomate, melón y ciruelo; encafecimiento interno de lechuga, apio, col, manzana, pera, durazno y otros frutos; encafecimiento externo de piel de tomate y lechuga (Kader, 1986).

Daños Patológicos

Una causa muy común de deterioración de productos vegetales cosechados es el ataque de bacterias y hongos. Esto ocurre generalmente cuando el vegetal ha sufrido un daño físico o cuando tiene mucho tiempo almacenado, de otra manera los vegetales soportan con mucho éxito estas infecciones. El papel que juegan las atmósferas controladas en este tipo de daños es de tipo indirecto, retardando su aparición al lograr detener un poco la aparición de senescencia en vegetales, y de tipo directo al suprimir en cierto grado el crecimiento de hongos, aunque para que ocurra esto es necesario condiciones que pueden ser dañinas para el vegetal (Kader, 1986).

El ataque de apio por *Sclerotinia sclerotiorum* y *Botrytis cinerea* a 0 y 1° C, fué suprimido mejor con el uso de 7.5% de CO y 1.5% de O₂ comparado con el uso de la baja concentración de oxígeno sola (Reyes y Smith, 1986). En general, como se acaba de observar, el uso de monóxido de carbono combinado con concentraciones de O₂ y CO₂ ha logrado aumentar la eficiencia de las AC para impedir el desarrollo de pudriciones por hongos en algunos productos; así, una atmósfera de 2.3% de O₂ y 5% de CO₂ combinada con 9% de CO logró suprimir en un 80-90% la velocidad de pudrición de fresas y uvas por *Botrytis cinerea*, de manzanas por *Penicillium expansum*, de limones por *Whetzelinia sclerotiorum* y de naranjas por *Penicillium italicum* y *Penicillium digitatum* a temperaturas de 5.5

o 12.5° C durante un período de 11 a 23 días (El-Goorani y Sommer, 1979; Yahia, et al., 1983).

Una investigación realizada con tomates inoculados con *Geotrichum candidum*, encontró que el CO₂ podía suprimir el desarrollo de la enfermedad, siempre y cuando se usara en presencia de baja concentración de oxígeno, así, una atmósfera de 0.25% de O₂ y 5% de CO₂ inhibió el desarrollo de la pudrición. Sin embargo, se encontró altamente dañina para la fruta (Wells y Spalding, 1975). Por otro lado, el desarrollo de *Colletotrichum gloeosporioides* fué reducido mayormente con la combinación de 2% de O₂ + 10% de CO₂, que con el uso de cada una de las condiciones por separado, en aguacates 'Fuchs' y 'Waldin' (Spalding y Reeder, 1975).

Pruebas realizadas inoculando por punción peras 'd'Anjou' con *Botrytis*, *Mucor*, *Penicillium* y *Pezicula*, encontró que una atmósfera consistente de 1% de O₂ inhibió la propagación de *Botrytis* y *Mucor* en 38 y 85% comparada con 97 y 100% en aire, respectivamente; la misma atmósfera inhibió la propagación de *Penicillium* y *Pezicula* en un 0%, mientras que en aire la inhibición fué de 0 y 10% respectivamente (Chen et al., 1981). Como se puede apreciar, las atmósferas controladas pueden no surtir el mismo efecto dependiendo del tipo de hongo o microorganismo de que se trate; así tenemos que el uso de 70% de CO₂ en col en trozos inoculada con esporas de siete cepas de *Clostridium botulinum* tipo A y siete cepas tipo B del mismo microorganismo, logró inhibir el desarrollo y



producción de toxina de las esporas en todas las cepas tipo B, mientras que las cepas tipo A, produjeron toxinas detectables hacia el día cuatro de almacenamiento (Solomon, et al., 1990).

En algunas ocasiones, el tipo de producto puede interferir de alguna manera con el efecto de las AC sobre los microorganismos, así tenemos que en una investigación donde se utilizaron mezclas de O_2 y CO_2 que sumaran un porcentaje de 21 (79% N_2), sobre espárragos (15% O_2 + 6% CO_2), brócoli (11% O_2 + 10% CO_2) y coliflor (18% O_2 + 3% CO_2), encontró que la inhibición en la velocidad de crecimiento de microorganismos aeróbicos fué significativa únicamente en brócoli (Berrang, et al., 1990).

Efectos de las Atmósferas con Altas Concentraciones de
CO₂ Sobre la Actividad de las Enzimas del
Ciclo de Krebs.

El uso de atmósferas modificadas en su composición natural se remonta aproximadamente al año de 1927 (Burton, 1974); desde entonces, este método ha soportado el paso del tiempo y ha demostrado que es eficaz para prolongar la vida de anaquel del producto manteniéndolo en condiciones óptimas. Desde que este método surgió, se han hecho multitud de estudios tratando de encontrar cantidades óptimas de CO₂ y de oxígeno para almacenar las diferentes frutas, sin tratar de explicar la razón por la cual, si no se cumplía con determinados requisitos en composición atmosférica, ocurría el llamado daño por elevadas concentraciones de CO₂ o muy bajas concentraciones de oxígeno (Kader, 1986); fenómeno que fué reportado por primera vez en el año de 1925 (Thomas, 1925).

La idea de usar atmósferas modificadas para alargar la vida de almacenamiento de un vegetal, inicialmente se apoyó en bases fisiológicas muy simplistas, sin embargo, las personas que lo desarrollaron aceptaron que el fenómeno era en verdad mucho mas complejo (Burton, 1974). En efecto es así, y ya en el año de 1925, se sabía que altas concentraciones de CO₂ podían provocar acumulación de acetaldehído y etanol en manzanas (Thomas, 1925); lo que sugería que de cierta manera el CO₂ podía provoca cambios en el metabolismo del fruto.

Cuando se estudió el ciclo de Krebs, se encontró que la oxidación de succinato a fumarato, por mitocondria de Ricinus, era retardada por mezclas de bicarbonato- CO_2 conteniendo 5 ó 10% de este (Ranson et al., 1957) y que mezclas de CO_2 -Bicarbonato equivalentes a 12% causaban un 50% de inhibición en el sistema succinato-citocromo c reductasa (Bendall, et al., 1960). Además, ocurrió acumulación de succinato en manzanas almacenadas en atmósferas modificadas (Hulme, 1956). Esto último también se observó en hojas de kalanchöe, en zanahoria y en avena con niveles de oxígeno de 1% (Ranson, 1953). La acumulación de succinato en hojas de kalanchöe también ocurrió con concentraciones de CO_2 de 70% (Ranson, 1953).

En otros estudios se ha reportado que 15% de CO_2 influye la oxidación de citrato, isocitrato, malato y succinato por mitocondria de coliflor (Miller y Hsu, 1965); además, se ha observado acumulación de citrato y ácido succínico en peras almacenadas en atmósferas modificadas (Williams y Patterson, 1964). Una investigación realizada en mitocondria de manzana encontró un efecto muy amplio sobre las enzimas del ciclo de Krebs; observándose que 18% de CO_2 estimuló la oxidación de malato en 10%, y suprimió las oxidaciones de alfa-cetoglutarato y citrato en 10%, y de fumarato y succinato en 32% (Shipway y Bramlage, 1973). Otro estudio mostró que el CO_2 afecta a la enzima succinato deshidrogenasa (Frenkel y Patterson, 1973), lo que fue corroborado por trabajos donde se concluyó que ocurre acumulación de succinato en manzana por efecto

de las atmósferas controladas, presumiblemente debido a la inhibición de la succinato deshidrogenasa (Murata y Minamide, 1970; Wager, 1974).

Se ha encontrado que además de los altos niveles de CO_2 , las condiciones anaeróbicas provocan decrementos en la actividad de la enzima succinato deshidrogenasa (Kennedy, et al. 1987). Uno de los trabajos mas recientes que se hicieron con el objetivo de conocer los efectos de altos niveles de CO_2 sobre el ciclo de Krebs, mostró que el CO_2 puede inhibir a la enzima Succinato Deshidrogenasa, además de retardar la formación de citrato, alfa-cetoglutarato, siendo este efecto mayor conforme se aumenta el porcentaje de CO_2 en la atmósfera (Monning, 1983).

Todas las observaciones y conclusiones logradas en los estudios anteriormente mencionados, han propiciado el surgimiento de multitud de hipótesis, que tratan de explicar el efecto de las atmósferas modificadas sobre el metabolismo respiratorio; a saber: desviación del piruvato hacia la formación de acetaldehído y etanol (Yahia, et al. 1991a; Yahia, et al. 1991b); cambios estructurales o conformacionales de la mitocondria (Frenkel y Patterson, 1974) o cambios de pH (Shipway y Bramlage, 1973; Siripanich y Kader, 1986); cambios en el proceso de transcripción (Goodenough y Thomas, 1981; Yahia, et al. 1991b); inhibición de la síntesis de proteínas, inactivación de las enzimas preexistentes, o una combinación de ambos factores (Kerbel, et al. 1988).

Tratamientos Cuarentenarios en Frutas

Para evitar la dispersión masiva de insectos que atacan frutas y hortalizas en zonas que no son sus habitats naturales, se han desarrollado los llamados tratamientos cuarentenarios (Fons, 1990; Klag, 1985).

La manera mas sencilla para evitar este tipo de contaminación es no importando frutas, pero desgraciadamente esta medida no puede ser tomada por no ser aceptable tanto política como económicamente, debido a que existen zonas en el mundo donde se dan las condiciones idóneas para la producción de tal o cual fruta y hortaliza, ocurriendo, por ende, una sobreproducción que satisface en exceso las necesidades locales y hace necesaria la venta del producto a lugares donde es difícil su cultivo. De esta forma se satisfacen las necesidades de zonas distantes y al mismo tiempo no se desperdicia el sobrante de la producción (Fons, 1990), acarreado este tipo de medidas importantes beneficios económicos para los países exportadores.

Varias de las especies existentes de insectos de la fruta tienen potencial para ser consideradas importantes desde un punto de vista económico en los tratos de importación y exportación de frutas en el mundo, sin embargo, existen algunas ya reconocidas en Asia y el Pacífico como importantes en este renglón, debido a la amplia distribución geográfica de su habitat, el gran número de hospederos potenciales que poseen y a la amplia diversidad de climas que son

capaces de soportar: mosca mexicana (*Anastrepha ludens*), mosca del mediterráneo (*Ceratitis capitata*), mosca del melón (*Dacus curcubitae*) y la mosca oriental de la fruta (*Dacus dorsalis*) (Chock, 1990).

Ahora bien, para el caso de moscas de la fruta, un tratamiento cuarentenario efectivo, es aquél capaz de provocar un efecto tal que sólo sobrevivan tres insectos o menos de una población de 100,000 bajo el tratamiento. Además de lo anterior, este tratamiento cuarentenario a ser aprobado debe de cumplir con otros requisitos (Fons, 1990):

- 1).- No poseer propiedades fitotóxicas, o en su defecto, tener un mínimo de ellas.
- 2).- Ser económico.
- 3).- Ser práctico de aplicar.
- 4).- Sencillo de supervisar o verificar.

Básicamente, los métodos cuarentenarios que se han desarrollado son mediante el uso de fumigantes, agua caliente, vapor caliente, temperaturas cercanas a 0°C, irradiación y atmósferas controladas.

Fumigantes

El uso de fumigantes en frutas ha sido tradicionalmente uno de los métodos mas efectivos como tratamientos cuarentenarios. Entre los compuestos

químicos mas importantes debido a su uso mas generalizado, están el bromuro de metilo (BME) y el dibromuro de etileno (DBE) (Fons, 1990).

El tratamiento a base de dibromuro de etileno, que fue aprobado como tratamiento cuarentenario en 1953, especificaba que la fruta fuera fumigada con una dosis de media libra de compuesto por 1000 pies cúbicos de volúmen de la cámara durante un tiempo de dos horas y una temperatura mínima de 21 °C en el centro de la fruta (Akamine and Arisumi, 1953).

Actualmente, la tendencia al rechazo por parte del consumidor hacia productos que han sido tratados con compuestos químicos (Petersen and Chaisson, 1988) ha provocado que el uso de estos dos compuestos químicos sea cada vez menor, aun para el caso de productos no comestibles como flores (Goodwin and Wellham, 1990), con lo que el DBE ha sido descontinuado por completo en los E.E.U.U. con fecha primero de Septiembre de 1984 por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de aquél país, aunque se permite su uso para fumigación de cítricos que son destinados a mercados fuera de los E.E.U.U. (Anónimo, 1984; Anónimo, 1986).

Para el caso del bromuro de metilo, en la actualidad existe un tratamiento cuarentenario para cerezas dulces importadas a E.E.U.U. de Australia, que consiste en la combinación de bajas temperaturas y fumigación con aquel compuesto químico (U.S. Department of Agriculture Animal and Plant Health Inspection Service, 1985).

Agua Caliente

Este tratamiento fue desarrollado inicialmente para prevenir enfermedades y ataque de insectos en material vegetal de propagación como bulbos de flores, sin embargo, cuando se prohibió el uso de DBE en frutas, resurgió como una alternativa viable y así fue como se iniciaron los intentos de utilizarlo para eliminar a las especies de *Anastrepha*, *Dacus* y *Ceratitis* en frutas de mango y papaya (Fons, 1990). Este tipo de tratamiento es más complicado que el uso de fumigantes en cuanto a su aplicación debido a el equipo requerido, la necesidad del control estricto tanto de temperatura como de tiempo y la duración que implica todo el proceso. A pesar de lo anterior, actualmente existe un tratamiento cuarentenario aprobado para mangos que son exportados a E.E.U.U. desde diferentes partes de México; así tenemos que estudios realizados en mangos 'Ataulfo' de Chiapas, encontró adecuado un tratamiento de 45.9-47.1 °C por 90 minutos para eliminar a *Ceratitis capitata* y *Anastrepha serpentina* (Sharp, *et al.*, 1989). Investigaciones para evaluar el efecto de un tratamiento a base de agua caliente en mangos de México no provenientes de Chiapas, encontró adecuado un tiempo de 46.1 °C por 90 minutos para controlar a una cepa creada en el laboratorio y una cepa salvaje mexicana de *Anastrepha ludens*, así como para controlar a una cepa salvaje mexicana y una cepa Haitiana, creada en el laboratorio, de *Anastrepha obliqua* (Sharp, *et al.*, 1989). Por otro lado, el uso de agua a 46.1-46.7 °C por 90 minutos se ha encontrado efectivo

para el control de *Anastrepha suspensa* en mangos a ser exportados desde Florida a diferentes partes del mundo (Sharp, *et al.*, 1989). Mangos exportados de Perú hacia los E.E.U.U. pueden ser tratados efectivamente como tratamiento cuarentenario contra *Ceratitis capitata*, *Anastrepha obliqua*, *Anastrepha distincta* y *Anastrepha frateculus* a $46.1\text{ C} \pm 0.25\text{ }^{\circ}\text{C}$ por un tiempo de 90 minutos (Sharp and Picho-Martínez, 1990).

En las investigaciones mencionadas arriba, no se encontraron efectos detrimentales a la calidad del producto debidos al tratamiento, sin embargo, existen productos que no pueden soportarlo. Por ejemplo, una fruta de Florida que tiene problemas de comercialización debido a infestación por mosca, son las carambolas (*Averrhoa carambola* L.); para este producto se ha encontrado adecuado el uso de agua a $46\text{-}46.4\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 45 minutos para la eliminación de *Anastrepha suspensa*, sin embargo, desgraciadamente se ha encontrado también que tiene efectos negativos sobre el producto, tales como acortamiento de la vida de anaquel, ablandamiento de la pulpa, desarrollo de colores desagradables de tonos amarillos y aparición de manchas cafés en la cáscara (Hallman and Sharp, 1990); debido a esto, es posible que no se apruebe este tratamiento para carambolas, toda vez que existe uno a base de bajas temperaturas que se ha encontrado efectivo. Resultados similares se encontraron al someter mango var 'Keitt' a 46°C por 60 y 90 minutos, donde se concluyó que este tratamiento disminuye la vida postcosecha del vegetal debido a que aumenta la velocidad

de respiración significativamente, aunque no se observaron daños en el producto (Campos, *et al.*, 1990).

Los efectos negativos de este tratamiento se han observado también al tratar de usar una temperatura 49.4-50.0 °C en ciruelas, nectarinos y duraznos para el control de *Anastrepha suspensa*; encontrándose que el tiempo necesario para lograr un tratamiento efectivo sobrepasaba por mucho el tiempo máximo que soportaban las frutas sin dañarse (Sharp, 1990).

En el caso de papayas de Hawaii, el tratamiento aprobado consiste en una doble inmersión en agua. La primera inmersión, se realiza por 30 minutos a 42 °C y la segunda por 20 minutos a 49 °C. Después del tratamiento, la fruta es enfriada mediante agua corriente con una temperatura de 24 °C durante 30 minutos (Couey and Hayes, 1986). Se ha encontrado que este tratamiento provoca daños en la fruta con el desarrollo de una concha dura generalmente en la región que se encuentra rodeando a la cavidad, por lo cual se ha sugerido como una forma de reducir este daño empezar con una fruta ligeramente mas fría que la que indica el tratamiento y terminar las dos inmersiones con un tratamiento que provoque una reducción ligeramente mayor de la temperatura que la que se sugiere (Laidlaw and Hayes, 1990).

Vapor Caliente

Este método fue desarrollado y usado por primera vez en el año de 1929 en Florida, con el fin de prevenir la dispersión de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata*), posteriormente, fue utilizado como un método cuarentenario para toronjas infestadas con *Anastrepha ludens* en Texas. Además, este tratamiento fue utilizado principalmente en Hawaii para la desinfestación de papaya (Fons, 1990).

Debido a que se encontraron efectos negativos en la calidad de la fruta por la aplicación de este tratamiento, surgió el uso de DBE posteriormente. Después de la prohibición en E.E.U.U. de el uso de DBE, se vió la necesidad de volver a revisar su posible uso potencial en tratamientos cuarentenarios, y es así como gracias a el mejoramiento tecnológico de las cámaras utilizadas para la aplicación del tratamiento, se logró aliviar un poco los efectos detrimentales disminuyendo el tiempo de exposición de 14 horas a 3-4 horas (Gaffney, *et al.*, 1990); estos mejoramientos tecnológicos han favorecido trabajos de investigación, donde se ha encontrado que el uso de este tratamiento puede constituir una alternativa viable, es así como se ha encontrado que un tratamiento cuarentenario no dañino para toronjas frescas puede llevarse a cabo mediante el uso de vapor caliente a 43.3-43.7 °C hasta que el centro de la fruta permanezca a 43.3 °C durante 50 minutos (Hallman, *et al.*, 1990). Actualmente existe un tratamiento para desinfestación de frutas a base de

vapor de agua que ha sido aprobado para la exportación de frutas a Japón (Fons, 1990).

Aire Forzado a Alta Temperatura

Esta alternativa como tratamiento cuarentenario se desarrolló principalmente a raíz de los problemas que se tenían debido a los efectos fitotóxicos provocados por el método a base de vapor de agua que por su misma naturaleza involucraba el uso de alta humedad relativa, hecho que puede evitarse con el uso del aire, ya que aquí puede ser controlada con más facilidad la humedad relativa. Este tratamiento se encuentra actualmente aprobado por la United States Department of Agriculture (USDA), para papayas de Hawaii, pero no ha sido aplicado comercialmente hasta el momento (Fons, 1990).

Básicamente, se trata de la aplicación de aire forzado a alta temperatura sobre la fruta, hasta que el centro de la misma alcance una temperatura de 47.2 °C, la cual es mas alta que la que pueden resistir los huevos y larvas de la mosca del mediterráneo y mosca oriental. Durante el tratamiento, se debe mantener la humedad relativa del aire entre 40-60% para prevenir daño a la fruta. Además, cuando se finaliza el tratamiento, las frutas deben hidrogenfriarse inmediatamente hasta que el centro de la fruta alcance una temperatura de 30 °C o menos (Armstrong, 1990).

Tratamiento con Frío

Este tipo de metodología involucra el uso de temperaturas de 0 a 3 °C durante período largo de tiempo, de 10 a 22 días, dependiendo de la especie que está tratando de eliminarse. Es mas efectivo contra las moscas de frutas tropicales que contra moscas de climas templados (Hatton, 1986) y además posee la ventaja de que puede ser aplicado durante el traslado de la fruta a un lugar distante, acarreado como beneficio adicional, el aumento en la vida de anaquel debido a la baja temperatura. Una de las principales desventajas de este método es el tiempo que requiere su aplicación, ya que algunas veces no es posible realizar ésto durante el transporte y esto hace necesario que se realice antes de que la fruta sea embarcada, con lo que el tiempo de llegada al mercado se retrasa significativamente. Este es el caso de cerezas dulces que se envían a Japón desde Australia (Jessup, 1990). Sin embargo, no es posible utilizar este tratamiento en frutas sensibles al frío como toronja, limón, aguacate, papaya, mango, tomato, pimiento (Kader, 1986) debido a que generalmente no toleran el tiempo requerido de aplicación. Por lo anterior, este tratamiento ha encontrado su aplicación mas importante para el caso de uvas de Florida que van a ser destinadas a la exportación (Fons, 1990).

Efectivamente, considerando que una temperatura de 2 °C durante 14 días puede provocar 100% de mortalidad de la mosca caribeña de la fruta, y que la uva, después de sufrir un acondicionamiento previo consistente en el

mantenimiento de la fruta a 16 °C por siete días puede soportar un almacenamiento de 21 días a 1 °C, el gobierno de Japón aprobó un tratamiento cuarentenario para uvas importadas de Florida, el cual consiste en un almacenamiento previo a 0.6 °C por 10 días seguido por un período de 17 días a 2.2 °C. Además de lo anterior, el tratamiento especifica que 1,500 frutas deberán ser mantenidas, posteriormente al tratamiento, por diez días a 27 °C y cortadas a la mitad para buscar la posible presencia de moscas dentro de las mismas (Hatton, 1986). Además de la aplicación en uvas, se ha encontrado que una temperatura de 1.1 °C ó 5 °C durante 13.6 días o 21.1 días respectivamente; puede eliminar efectivamente la mosca caribeña (*Anastrepha suspensa* (Loew)) de carambolas infestadas que van a ser transportadas desde Florida a otras partes del mundo, incluyendo E.E.U.U. (Gould and Sharp, 1990).

Irradiación

Este tratamiento consiste en el uso de isótopos radiactivos, como el Co^{60} y el Cs^{137} que producen radiación gamma; o el uso de rayos X y electrones acelerados. Para el caso de frutas frescas, se utiliza mayormente la radiación gamma con la cual se irradian a diferentes intensidades, ya que su resistencia al proceso varía. Actualmente se permite usar dosis de hasta 100 krad como máximo (Kader, 1986b); estas dosis se consideran suficientes para

su uso como un posible tratamiento que libre a la fruta de las moscas (Burditt, 1982), ya que se ha encontrado necesaria la aplicación de 15-75 krad para desinfestar la fruta (Kader, 1986b). La dosis a utilizar es muy importante debido a que se ha encontrado que en frutas como tomate, peras 'Bartlett', fresas variedades 'Kasuga', 'Lindalicious', 'Robinson' y 'Sparkle', albaricoque, duraznos, espárragos, calabazas, alubias, duraznos chinos, cerezas dulces var 'Bing' y cerezas agrias var 'Early Richmond' observan un decremento en sabor, de acuerdo a la evaluación de un panel sensorial, conforme se aumenta la dosis (Salunkhe, *et al.* 1959).

Básicamente, se puede considerar como dañina, una dosis mayor o igual a 1000 krad (1 KGy); ya que provoca acelerado ablandamiento de la pulpa, desarrollo de sabores desagradables, maduración anormal y desarrollo de desórdenes fisiológicos. Entre estos últimos se encuentra el manchado de la cáscara de naranja y toronja, desarrollo de cavidades internas en limón y limas, daño a la piel en plátanos, encafecimiento interno de aguacate, manchado de la piel y oscurecimiento del pedúnculo de uvas, descoloramiento interno y externo de aceitunas y encafecimiento de higos 'Kadota' (Kader, 1986b).

Existe una clasificación de las frutas y vegetales en base a su tolerancia relativa a dosis menores de 1 kGy, agrupándose a los mismos como de alta, moderada y baja resistencia, como se observa en el cuadro uno.

**Cuadro 1. Tolerancia relativa de frutas frescas y vegetales a
el stress provocado por dosis de radiación <math><1\text{Kc}</math>**

Tolerancia relativa	Vegetales
Alta	Manzana, cereza, dátil, guayabo, longan, mango, melón, neclarina, papaya, durazno, rambutan, frambuesa, fresa, tamarillo, tomate.
Moderada	Albaricoque, plátano, chirimoya, higo, toronja, naranjo chino, níspero del Japón, naranja, granadilla, pera, piña, ciruelo, tangelo, mandarina.
Baja	Aguacate, pepino, uva, frijol verde, limón, lima, aceituna, pimienta, zapote, soursop, calabaza de verano, vegetales de hoja, brócoli y coliflor.

Tomado de: Kader, 1986b.

En este punto es importante hacer la aclaración que la respuesta de los vegetales a los tratamientos a base de irradiación ionizante depende de el tipo de vegetal y variedad, área de producción y estación, madurez al momento de la cosecha, calidad inicial y procedimientos de manejo postcosecha; además, desde el punto de vista del proceso, depende de la dosis de irradiación, velocidad de la misma y condiciones ambientales durante la aplicación del tratamiento, como la temperatura y la composición de la atmósfera (Kader, 1986b).

En cuanto a los efectos nutricionales y de toxicidad del proceso, los estudios en alimentos que han sido irradiados han demostrado que no produce reducciones significantes en la calidad nutricional, al menos no mayores que las que producen los actuales métodos de preservación; observándose ligeras pérdidas sobre niacina, tiamina, riboflavina y beta-caroteno (Kader, 1986b), aunque se han encontrado pérdidas importantes de vitamina C cuando se irradian fresas frescas (Salunkhe, *et al.*, 1959). Además de lo anterior, los compuestos radiolíticos que a veces se forman no siempre se deben al tratamiento, ya que se han encontrado también en alimentos que no han sido irradiados. Por otro lado, la ausencia de productos tóxicos formados durante el proceso se ha demostrado sobre una poderosa base científica de acuerdo a estudios de mutagenicidad y teratogenecidad con varios animales; lo anterior ha dado pie a que entre 1959 y 1981 hayan sido aprobados 40 alimentos

irradiados por las autoridades de salud en al menos uno de los 24 países que poseen legislación para alimentos irradiados; esto incluye a los E.E.U.U. en la desinfestación de granos y la inhibición de brotamiento en papas (Anónimo, 1983). Reafirmando lo anterior, en 1980, un comité de expertos de la Organización Mundial de la Salud concluyó que actualmente los datos disponibles permiten afirmar que se pueden utilizar dosis de hasta un Mrad (10 KGy) en alimentos, sin el peligro de problemas toxicológicos y que no se considera necesario la realización de mayores pruebas de laboratorio para confirmar esta conclusión (WHO, 1981).

A pesar de lo anterior, actualmente existen controversiales opiniones de los consumidores acerca de la aceptación al consumo de vegetales irradiados (Bruhn, et al., 1986), aunque algunas encuestas realizadas han mostrado que la gente está dispuesta a aceptarlos (Bruhn and Noell, 1987). Esto ha provocado que actualmente se estén realizando algunos intentos para tratar de implantar tratamientos cuarentenarios a base de irradiación. Es así como se ha sugerido un tratamiento con Co⁶⁰ en dosis de 75 Gy para cerezas dulces que van a ser exportadas de Australia a Japón, en vista de que solo provoca pequeños decoloramientos en el pedúnculo de la fruta (Jesup, 1990). Por otra parte, el uso de 300 Gy ha demostrado que es capaz de esterilizar a los insectos que eclosionan de huevos con 120-144 horas de edad de la especie *Tetranychus urticae* Koch, la cual es importante debido a que infesta rosas, lo cual trae

consigo dificultades en la exportación de este producto desde Australia a diversos países (Goodwin and Wellham, 1990).

Se ha encontrado que una dosis de 20 Gy por 0.25, 0.5, 1.0 y 100 minutos provoca una mortalidad mayor de 99% en la mosca mexicana de la fruta (*Anastrepha ludens*) que causa problemas de exportación de uvas hacia los estados unidos desde México, Centro y Sudamerica; debido a esto, se considera altamente probable que será un método efectivo para controlar a esta mosca, como se ha encontrado que es para el control de la mosca caribeña (*Anastrepha suspensa*) (Lester and Wolfenbarger, 1990).

Ahora bien, en previsión de la posibilidad que en un futuro cercano los tratamientos cuarentenarios a base de irradiación se vuelvan de uso común, algunos estudios se han avocado a tratar de encontrar métodos sencillos y rápidos que permitan al país anterior, se ha sugerido; principalmente debido a que no siempre la aplicación de irradiación mata al insecto sino sólo lo esteriliza, la revisión anatómica en el insecto de la longitud del ganglio supraesofágico usando como control interno el tamaño del proventrículo, debido a que se ha encontrado que aquel se acorta tras una dosis de radiación como la que se utiliza en estos tratamientos (Rahman, et al., 1990).

Atmósferas Controladas

Este tipo de tratamientos han surgido como una posible opción al uso de los métodos que involucran calor, ya que se ha visto que si no son aplicados estrictamente, pueden acarrear problemas de daños a la fruta, como desórdenes de maduración en papayas (Kader, 1986a), y acortamiento de la vida de anaquel debido al aumento en el metabolismo provocado por el aumento en la temperatura. Además, este método puede usarse en forma alternativa a la irradiación, en frutas que no pueden soportar los niveles de energía necesarios para eliminar a las moscas de la fruta (Kader, 1990), o en combinación (Thayer and Harlan, 1983). En cuanto a esto último, se ha encontrado que la irradiación en atmósferas de nitrógeno o CO₂ son menos efectivos en lograr una esterilización permanente en el gorgojo del algodón, con lo que estos resultados no parecen alentar el uso de los dos tratamientos combinados (Earle, *et al.*, 1979; Kader, 1986b).

Aunque actualmente no existe aún un tratamiento cuarentenario a base de atmósferas controladas que se esté aplicando comercialmente, se han hecho muchos intentos a este respecto. De aquí tenemos que se han publicado una gran cantidad de trabajos de investigación, donde se ha constatado una y otra vez el éxito en el control de insectos que atacan a granos almacenados (Marzke, *et al.*, 1970; Navarro, 1978; Calderon and Navarro, 1980; Harein and Press, 1968; Jay and Pearman, 1973; Storey, 1980; Reichmuth, 1986). Asimismo, se han

publicado un buen número de revisiones acerca del tema (Bailey and Banks, 1974; Davis and Jay, 1977; Navarro and Calderon, 1980; Bailey and Banks, 1980; Annis, 1986); incluyendo las que tratan acerca de los estudios desde el punto de vista tecnológico en el uso de las atmósferas controladas en diferentes recintos de almacenamiento para granos (McGaughey and Akins, 1989). Se han hecho intentos de aplicación de estos tratamientos en combinación con insecticidas como malation y acetaldehído, observándose que ocurre un efecto sinergista sobre la mortalidad de los insectos, principalmente cuando se usan altos niveles de CO₂ (Jones, 1938; Hartsell, *et al.*, 1979).

Lo anterior es en cuanto a granos almacenados; en lo que respecta a frutas y hortalizas, existen pocos estudios, de los cuales se hablará a continuación.

Las investigaciones realizadas *in vitro* sobre el gusano del manzano (*Cydia pomonella* L.), que es un importante hospedero de nectarinas, duraznos y ciruelas, han encontrado que puede ser exterminado en un 100% con la aplicación de 60% de CO₂ durante 48 horas a 25 °C; cuando se usó 0.5% de O₂, fue necesario alargar el tiempo de aplicación por 12 horas más. Por otra parte, cuando se aumentó la humedad relativa del ambiente de 60 a 95%, fue necesario aumentar el tiempo de aplicación 12 horas más, para los dos tratamientos mencionados arriba.

La polilla de la harina de maíz (*Plodia interpunctella* Hubner) que ataca a frutas secas y nueces; y el gusano (*Amyelois transitella*), que ataca nueces en el

campo, fueron expuestos a concentraciones de O_2 de 0.5%, 1% y 2% a 40% y 60% de H.R.; encontrándose que para el primero, el tiempo requerido para matar el 95% de la población (LT95) disminuyó de 1034 a 588 horas con la disminución en el porcentaje de oxígeno de 2 a 0.5% en 40% y 60% de humedad relativa. Para el caso del segundo insecto mencionado, la disminución en el porcentaje de oxígeno no alteró el tiempo para alcanzar el LT95 (913 horas). Sin embargo, un aumento de 40 a 60% en H.R., aumentó el tiempo para alcanzar el LT95 a 1488 horas, en todas las concentraciones de oxígeno probadas (Soderstrom and Brandl, 1985).

En un intento por tratar de desarrollar un método a base de atmósferas controladas como un sustituto al uso de HCN para el control de insectos en lechuga, se probaron diferentes niveles de O_2 y CO_2 : 10, 30, 50 ó 70 % de CO_2 combinados con dos niveles de O_2 (5 y 21%) por espacio de 1 ó 2 horas, y a una temperatura de 20 °C. También se probó 5% de O_2 , con y sin 1% de CO_2 , durante 1, 3 ó 7 días a 2.5 °C. Los insectos que se utilizaron en el estudio fueron: *Mizus persicae* (Sulzev), *Heliothis zea* (Boddie) y *Trichoplusia ni* (Huber). Se encontró que ninguno de estos tratamientos provocaba efectos negativos en la lechuga, pero desafortunadamente tampoco afectaron la mortalidad de los insectos utilizados en el estudio (Klaustermeyer, et al. 1977).

En otro estudio, se encontró que niveles elevados de CO_2 causaron un 100% de mortalidad sobre el insecto *Frankliniella occidentalis* en fresas mantenidas

durante 48 horas a 2.5 °C. Este tratamiento además, no fomentó la pudrición, aunque afectó ligeramente el sabor del producto (Aharoni, *et al.*, 1981). Se ha reportado que el uso de niveles de 0.5% de O₂ y 9.5-11% de CO₂, puede eliminar todos los estadios de los principales insectos que atacan pasas y almendras en un tiempo de dos días a 26.7 °C y siete días a 15.6 °C (Soderstrom, 1977); en este estudio no se menciona el tipo de insectos sobre los cuales se aplicó el tratamiento. Se evaluó el efecto de <0.5% de O₂ y 10-14% de CO₂ sobre los insectos *Capra figulilella* (Gregson), *Plodia interpunctella* (Hubner), *Drosophila melanogaster* (Meigen), *Carpophilus hemipterus* (L.), *Oryzaephilus mercator* (Fauvel), *Oryzaephilus surinamensis* (L.) y *Tribolium castaneum* (Herbst) en pasa; encontrando un 100% de mortalidad a los cinco días con una temperatura de 27 °C y a los 14 días con una temperatura de 16 °C (Soderstrom and Brandl, 1985).

Estudios realizados en mango y naranja de desecho han encontrado 97% y 85% de mortalidad en *Anastrepha ludens* con el uso de 60% de CO₂ y 34% de CO₂, respectivamente. En este trabajo, el porcentaje de CO₂ utilizado, se generó enterrando a las frutas bajo una capa de 20 a 30 cm durante ocho días. (López and Balock, 1970).

Se ha intentado probar la efectividad de una atmósfera controlada usando para este fin camotes (*Ipomoea batatas* L.) infestados por el gorgojo adulto del camote *Cyclus formicarius elegantulus* (Summers). En este experimento se utilizaron las siguientes combinaciones de O₂:CO₂; 21:0, 8:0, 15:25, 10:35, 8:30,

10:50, 8:40, 8:50, 8:60, 4:40, 4:60, 2:40 y 2:60. Se encontró que los tratamientos con combinaciones de 4:60 y 2:60 fueron los únicos que lograron prevenir la emergencia del gorgojo adulto. Sin embargo, es importante hacer la aclaración de que estos niveles de O_2 y CO_2 no pueden ser utilizados durante el curado de el vegetal; por lo que se recomienda que se utilicen en camotes curados. Debido a que estos tratamientos pueden provocar efectos negativos en la calidad del vegetal en una semana de exposición, se recomienda que se utilicen condiciones mas extremas de oxígeno y dióxido de carbono por tiempos mas cortos para tratar de alcanzar los márgenes de seguridad que se exigen a todo tratamiento cuarentenario a ser utilizado comercialmente (Delate, *et al.*, 1990).

A últimas fechas, los esfuerzos para tratar de desarrollar un tratamiento cuarentenario a base de AC, se han enfocado hacia la exposición de las frutas a niveles muy extremos de oxígeno y CO_2 durante períodos cortos. En estos trabajos se han encontrado resultados prometedores, ya que peras 'Bartlett' sometidas a concentraciones de oxígeno de 0.25%, 0.5% y 1.0%, y de CO_2 de 20%, 50% y 80%, soportaron hasta 10 días los niveles bajos de oxígeno y de 4 a 6 días los altos niveles de CO_2 (Ke, *et al.*, 1990); mangos 'Keitt' soportaron hasta 4 días en una atmósfera de menos de 0.5% de O_2 y 70-80% de CO_2 y 5 días en una atmósfera de 2% de O_2 y 50% de CO_2 sin sufrir daños organolépticos (Medina, *et al.*, 1990); naranjas 'Valencia' fueron almacenadas hasta 20 días en niveles de oxígeno de 0.02%, 0.25% y 0.5% a 5 y 10°C sin desarrollar sabores u

olores desagradables durante su almacenamiento posterior en aire (Ke y Kader, 1990). Desafortunadamente, no todos los vegetales toleran durante largo tiempo una atmósfera controlada insecticida, y así tenemos que se encontró que papaya sometida a niveles de oxígeno de 0.1-0.3% desarrolló sabores y olores desagradables al tercer día de almacenamiento en aire, posterior al almacenamiento en AC (Yahia, *et al.*, 1990a); nectarinas almacenadas en 0.5% de O₂ a 5 y 15 °C sufrieron maduración anormal después de permanecer tres días a 15°C y seis días a 5°C; los daños que se observaron a 5°C fueron menos severos con respecto a los de 15°C (Smilanick and Fouse, 1989).

Se ha encontrado que aguacate expuesto a 0.1-0.44% de O₂ y 54-75% de CO₂ sólo puede soportar un día de almacenamiento sin sufrir daños (Carrillo y Yahia, 1990); otro estudio realizado donde se sometió la fruta a bajos niveles de O₂ (0.25%), altos niveles de CO₂ (80%) o a una combinación de ambos (0.25% de O₂ y 80% de CO₂), encontró que la fruta sólo podía soportar un día de almacenamiento, siendo la atmósfera enriquecida con CO₂ la que resultó mas dañina (Yahia y Kader, 1991)

Como se puede deducir de los estudios que se mencionaron arriba, básicamente las investigaciones realizadas hasta ahora usando las AC en un intento por controlar insectos, han dado los mejores resultados cuando se han usado sobre granos almacenados, nueces de diversos tipos y frutas secas; seguramente esto se debe al hecho de que estos productos pueden soportar

condiciones sumamente extremas de bajo O_2 y/o alto CO_2 , por largos períodos de tiempo. Para el caso de frutas frescas, estas mismas condiciones extremas solo pueden usarse, en el mejor de los casos, en períodos de tiempo mas cortos debido al peligro de daños al vegetal.

Ahora bien, en la literatura existen pocos trabajos donde se han aplicado condiciones extremas de oxígeno y/o CO_2 en frutas infestadas con el fin de observar que tan efectivo es el tratamiento aniquilando a los insectos, y desafortunadamente los resultados no son 100% satisfactorios, aunque se considera que todavía es necesario realizar investigación en este campo.

En vista de la aplicación exitosa de atmósferas con niveles insecticidas de oxígeno y CO_2 en los productos mencionados anteriormente, es importante seguir realizando mas investigaciones con el fin de evaluar *in vivo* los efectos de estos tratamientos sobre las moscas de las frutas o algunos otros hospederos, para considerar la posibilidad de un desarrollo tecnológico para la aplicación de estos tratamiento en frutas.

MATERIALES Y METODOS

Materia Prima

El mango (*Mangifera indica* var. keitt) utilizado en el estudio fué obtenido en Huatabampo (Sonora) y cortado en estado verde maduro. La cosecha fué manual utilizando tijeras, dejándosele a la fruta una parte del pedúnculo (1-2 cm) para evitar el manchado de la cáscara de la fruta por el látex.

Manejo del Producto antes del Almacenamiento

Se trasladó la fruta hasta el laboratorio inmediatamente después de cosechada, en un tiempo aproximado de seis horas. Una vez allí, fué lavada y secada cuidadosamente para ser clasificada por tamaño, ausencia de daños y grado aparente de madurez, con el objetivo de tener una muestra homogénea. Posteriormente, fué enumerada y pesada, siendo tomadas 15 unidades y congeladas a -40°C de inmediato. El resto de las frutas fué colocada en recipientes de vidrio de 3.8 litros de capacidad para el caso de tratamiento con atmósferas controladas o en cajas de cartón corrugado para el caso de frutas control.

Almacenamiento de Mango y Evaluación Física

El mango se almacenó durante cinco días a una temperatura de 20°C y a concentraciones de O₂ en un rango de 0.2 a 0.3%. Para ésto, se utilizó un sistema de flujo continuo que mezclaba aire y nitrógeno para posteriormente distribuirlo de manera uniforme hacia los recipientes de vidrio donde se encontraba la fruta, a una velocidad de 250 ml/min; la cual se controló mediante el uso de tubos capilares. Las frutas control se almacenaron en cajas de cartón corrugado envueltas en polietileno de baja densidad con diez orificios de aproximadamente 8 cm de diámetro para mantenerlas en alta humedad relativa, pero sin modificar el contenido de los gases.

Medición de la Velocidad Respiratoria

Para medir la velocidad de respiración (ml CO₂/kg-hr), las frutas fueron colocadas a temperaturas de 20° C en recipientes de vidrio donde se introdujo un flujo continuo de aire libre de etileno y CO₂, a una velocidad de 250 ml/min; controlada mediante el uso de tubos capilares. Diariamente, se tomaron muestras de la atmósfera dentro de los recipientes de vidrio con una jeringa hipodérmica y se inyectó un ml a un analizador de infrarrojo para CO₂ (Horiba PIR 2000) usando nitrógeno como gas acarreador.

Medición de O₂ y CO₂ en la Atmósfera Controlada

Diariamente, se midió el porcentaje de O₂ y CO₂ de la AC donde se encontraban las frutas, para lo cual se tomaron muestras de aire de la salida de los recipientes mediante una jeringa hipodérmica. Estas muestras fueron inyectadas al analizador infrarrojo para CO₂ y a un analizador de oxígeno (Mocon LC 700F, Toray Engineering Co., Ltd. Japan).

Muestreo de las Frutas y Evaluación Física

Después de cada día de almacenamiento transcurrido, 28 frutas de la atmósfera controlada y del aire eran retiradas y 19 de cada tratamiento transferidas a aire normal, con la misma temperatura. Las nueve frutas restantes eran utilizadas de la siguiente forma: tres eran colocadas inmediatamente en un congelador a 40°C bajo cero para los análisis bioquímicos posteriores, que consistieron en la medición de actividad de cuatro enzimas del metabolismo respiratorio; y en las seis frutas restantes, se llevaron a cabo las determinaciones de textura en pulpa de la fruta, pérdida de peso y pérdida de color verde en cáscara.

La evaluación de textura en pulpa fué hecha mediante el uso de un penetrómetro chatillon (DFG 50, John Chatillon & Sons, Inc. New York, N.Y.) en seis puntos de la fruta, tres por cada uno de los lados, y para realizarla se

eliminó la cáscara de la fruta mediante una navaja de rasurar. La pérdida de peso fué determinada en base al peso inicial y final que mostró la unidad y el cambio de color en cáscara fué determinado subjetivamente, de tal manera que se calculó el porcentaje de zonas de color amarillo en la cáscara con respecto al total de superficie de la misma.

Después de transcurridos cinco días a partir de la transferencia de las frutas a aire, fueron muestreadas nueve frutas de este lote y manejadas de la manera como se menciona arriba; asimismo, se tomaron nueve frutas del control.

A 15 días de almacenamiento, se llevó a cabo un muestreo general tanto de frutas con diferentes días de permanencia en AC como del control y una evaluación sensorial de las mismas.

Evaluación Sensorial

Esta evaluación se realizó a 15 días del inicio del experimento y su objetivo fué estudiar el efecto de la atmósfera controlada sobre las propiedades sensoriales de las frutas como sabor, olor, color; así como la posible presencia de daños en el producto. Los tratamientos que se evaluaron fueron:

- 1) Cinco días en AC y 10 días en aire
- 2) Cuatro días en AC y 11 días en aire
- 3) Tres días en AC y 12 días en aire
- 4) Dos días en AC y 13 días en aire

5) Un día en AC y 14 días en aire

6) Quince días en aire

Se utilizaron 10 jueces no entrenados, a los cuales se les pidió que respondieran un cuestionario donde se les requería para que calificaran, en base a una escala hedónica, el aroma y sabor característicos, textura, color en pulpa y cáscara y aceptabilidad en general de la fruta. Las escalas hedónicas utilizadas fueron: aroma: 0 = no presenta, 1 = muy ligero, 2=ligero, 3 = moderado, 4 = fuerte, 5 = muy fuerte; además, se les pidió que anotaran si encontraban olores extraños; sabor: 0=no presenta, 1 = muy ligero, 2 = ligero, 3 = moderado, 4 = fuerte, 5 = muy fuerte; además, se les pidió que anotaran la presencia de sabores extraños. Las escalas hedónicas utilizadas para textura fueron: 1 = muy blando, 2 = blando, 3 = intermedio, 4 = firme, 5 = muy firme; para el color de cáscara: 1 = verde, 2= ligeramente amarillo, 3 = ligeramente verde, 4 = amarillo; y color en pulpa: 1 = blanca, 2 = crema, 3 = amarilla, 4 = naranja; en esta parte de la evaluación se les solicitó que anotaran la presencia de manchas en cáscara o de zonas de aspecto desagradable en pulpa y cáscara. La aceptabilidad general fué evaluada en base a la siguiente escala: 0 = disgusta mucho, 1=disgusta poco, 2 = ni gusta ni disgusta, 3 = gusta poco, 4 = gusta, 5 = gusta mucho. La evaluación de sabor y textura, se hizo bajo luz roja para evitar el efecto de la apariencia visual.

Medición de Actividad Enzimática

Preparación de la Muestra

Las frutas congeladas fueron liofilizadas utilizando presiones menores de 100 micras de mercurio y temperaturas de 50°C bajo cero mediante un equipo Labconco (Labconco Corp. Kansas City, Missouri). Posteriormente, la muestra fué pulverizada utilizando un molino TECATOR de malla 0.1 mm. El polvo resultante fué guardado en frascos, los cuales fueron colocados en un recipiente a 0° C con un desecante en su parte inferior para evitar la posible rehidratación de la muestra.

Preparación del Extracto de la Fruta

Las enzimas que se estudiaron en el presente trabajo son las siguientes: Malato Deshidrogenasa (1.1.1.37), Isocitrato Deshidrogenasa (1.1.1.41), alfa-cetoglutarato Deshidrogenasa (1.2.4.2) y Succinato Deshidrogenasa (1.3.99.1). Para llevar a cabo la determinación de actividad de las tres primeras, se utilizó una misma mezcla extractora, que se hizo modificando la técnica reportada por Goodenough y Thomas (1981) mediante el uso de Triton X-100, para asegurar una extracción mas completa de las enzimas. La mezcla extractora consistió de buffer de fosfato 100 mM de pH=8.0, conteniendo 1% de Polivinilpirrolidona, 0.05 mM de EDTA, 10 mM de ascorbato y 0.5% de Triton X-100. La extracción se realizó mezclando 10 ml. de solución extractora con 0.5 gr. de material

Medición de Actividad Enzimática

Preparación de la Muestra

Las frutas congeladas fueron liofilizadas utilizando presiones menores de 100 micras de mercurio y temperaturas de 50°C bajo cero mediante un equipo Labconco (Labconco Corp. Kansas City, Missouri). Posteriormente, la muestra fué pulverizada utilizando un molino TECATOR de malla 0.1 mm. El polvo resultante fué guardado en frascos, los cuales fueron colocados en un recipiente a 0° C con un desecante en su parte inferior para evitar la posible rehidratación de la muestra.

Preparación del Extracto de la Fruta

Las enzimas que se estudiaron en el presente trabajo son las siguientes: Malato Deshidrogenasa (1.1.1.37), Isocitrato Deshidrogenasa (1.1.1.41), alfa-cetoglutarato Deshidrogenasa (1.2.4.2) y Succinato Deshidrogenasa (1.3.99.1). Para llevar a cabo la determinación de actividad de las tres primeras, se utilizó una misma mezcla extractora, que se hizo modificando la técnica reportada por Goodenough y Thomas (1981) mediante el uso de Triton X-100, para asegurar una extracción mas completa de las enzimas. La mezcla extractora consistió de buffer de fosfato 100 mM de pH=8.0, conteniendo 1% de Polivinilpirrolidona, 0.05 mM de EDTA, 10 mM de ascorbato y 0.5% de Triton X-100. La extracción se realizó mezclando 10 ml. de solución extractora con 0.5 gr. de material

Medición de Actividad Enzimática

Preparación de la Muestra

Las frutas congeladas fueron liofilizadas utilizando presiones menores de 100 micras de mercurio y temperaturas de 50°C bajo cero mediante un equipo Labconco (Labconco Corp. Kansas City, Missouri). Posteriormente, la muestra fué pulverizada utilizando un molino TECATOR de malla 0.1 mm. El polvo resultante fué guardado en frascos, los cuales fueron colocados en un recipiente a 0° C con un desecante en su parte inferior para evitar la posible rehidratación de la muestra.

Preparación del Extracto de la Fruta

Las enzimas que se estudiaron en el presente trabajo son las siguientes: Malato Deshidrogenasa (1.1.1.37), Isocitrato Deshidrogenasa (1.1.1.41), alfa-cetoglutarato Deshidrogenasa (1.2.4.2) y Succinato Deshidrogenasa (1.3.99.1). Para llevar a cabo la determinación de actividad de las tres primeras, se utilizó una misma mezcla extractora, que se hizo modificando la técnica reportada por Goodenough y Thomas (1981) mediante el uso de Triton X-100, para asegurar una extracción mas completa de las enzimas. La mezcla extractora consistió de buffer de fosfato 100 mM de pH=8.0, conteniendo 1% de Polivinilpirrolidona, 0.05 mM de EDTA, 10 mM de ascorbato y 0.5% de Triton X-100. La extracción se realizó mezclando 10 ml. de solución extractora con 0.5 gr. de material

lío-filizado, agitando durante 15 minutos a 4°C usando un homogenizador de alícuotas. Posteriormente, fué filtrada a través de papel de microfibras de vidrio (Whatman International Ltd., Maidstone, England). La solución resultante fué centrifugada durante 20 minutos a 7600 g (IEC Centra-4B, International Equipment Company, U.S.A.) utilizándose el sobrenadante para llevar a cabo la medición de las actividades enzimáticas. Para Succinato Deshidrogenasa, el medio de extracción se modificó mediante la sustitución de polivinilpirrolidona por polivinilpirrolidona con la misma concentración (Kennedy, et. al., 1987).

Técnicas Utilizadas para la Medición de la Actividad Enzimática

Para la enzima Malato Deshidrogenasa, se utilizó la técnica descrita por Tompa (1987); alfa-cetoglutarato Deshidrogenasa fué medida siguiendo a Sanadi (1969).

Isocitrato Deshidrogenasa se evaluó de acuerdo a Abdul (1975) y Succinato Deshidrogenasa fué determinada mediante la técnica de Singer (1973).

Para todos los casos, se llevó a cabo una doble extracción de cada fruta, realizándose la determinación de actividad por cuadruplicado en cada extracto, mediante el uso de un espectrofotómetro Lambda-3A dotado de un graficador R-100A (Perkin Elmer, Oak Brook Instruments Division, Oak Brook, Illinois, U.S.A.).

Actividad Específica

La actividad específica resulta de dividir la actividad volumétrica entre los miligramos de proteína. La actividad volumétrica se define como la cantidad de unidades internacionales de enzima por litro de solución, determinadas de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad Volumétrica (UI/l)} = \frac{\Delta A}{t} + \frac{1000}{e \cdot d} + \frac{V_m}{V_t}$$

donde:

- A = Cambio de Absorbancia
- t = Tiempo durante el cual ocurrió el cambio de absorbancia
- e = coeficiente de extinción molar del NADH a 340 nm
- d = diámetro de la celda
- V_m = Volúmen de la muestra agregado a la celda
- V_t = Volúmen total de la solución en la celda

El valor que resulta de la fórmula anterior, se divide entre los mg/l de proteína que tiene el extracto enzimático y el resultado es lo que se esta considerando como actividad específica. Es importante mencionar aquí que por definición una unidad internacional de cualesquier enzima equivale a aquella cantidad de enzima que es capaz de transformar un micromol (10⁻⁶ moles) de sustrato por minuto a 25 °C, en óptimas condiciones de medición.

Efecto de la Liofilización Sobre la Actividad Enzimática

Para determinar el efecto de la liofilización sobre la actividad enzimática, se tomaron tres mangos de diferente estado de maduración, las cuales fueron cortadas por la mitad. Una de las mitades fué utilizada inmediatamente para determinar la actividad en fresco, mientras que la otra mitad de cada fruta manejada de la forma como se hizo para todas las muestras en este experimento.

Las enzimas que se evaluaron fueron: malato deshidrogenasa, isocitrato deshidrogenasa y alfa cetoglutarato deshidrogenasa.

Determinación de Proteínas

La determinación de proteína en los extractos, fué llevada a cabo de acuerdo a la técnica descrita por Bradford (1976) utilizándose albúmina de suero bovino como estándar.

Análisis Estadísticos

El experimento de almacenamiento de mango fué estudiado en base a un análisis de varianza, con un nivel de confianza de 5%, considerando un diseño de parcelas divididas, donde las parcelas grandes fueron el tipo de atmósfera y las subparcelas los días de almacenamiento. De acuerdo a esto, se efectuó un

análisis de varianza general para determinar si había o no diferencias en respiración, pérdida de peso, textura, pérdida de color verde y actividad enzimática de malato deshidrogenasa, isocitrato deshidrogenasa, alfa-cetoglutarato deshidrogenasa y succinato deshidrogenasa. Además de lo anterior se determinaron las diferencias mínimas significantes (DMS) para cada día de almacenamiento para todas las variables anteriores, salvo para el caso de respiración. La evaluación sensorial tuvo un diseño de bloques incompletos balanceados (Cochran y Cox, 1957) y la estadística utilizada fué análisis de varianza y prueba de Tukey para el caso de diferencias significativas entre medias (Gacula and Singh, 1984).

RESULTADOS

Composición de la AC y su Efecto Sobre la Calidad de la Fruta

La figura 1 muestra el comportamiento en la concentración de O_2 y CO_2 de la AC. La cantidad de O_2 se mantuvo entre 0.2 y 0.3%, y la de CO_2 , entre 0.1 y 0.2%. Estos niveles de O_2 disminuyeron la velocidad respiratoria de la fruta, de acuerdo a la figura 2, ya que el pico climatérico de las frutas almacenadas en aire se alcanzó en el quinto día con un valor de 62.6 ml CO_2 /kg-hr, mientras que las frutas mantenidas en AC permanecieron con una velocidad respiratoria muy baja (7.178 ml CO_2 /kg-hr) y virtualmente igual a la del primer día de almacenamiento; encontrándose la diferencia en respiración estadísticamente significativa ($p < 0.05$). En la figura 3 se resume los resultados de la evaluación de la pérdida de color verde de la cáscara de la fruta. La parte izquierda de la gráfica, corresponde a los primeros cinco días de almacenamiento y muestra el comportamiento de las frutas bajo la AC y aire durante este tiempo. La parte derecha corresponde al almacenamiento de los últimos diez días y se refiere al comportamiento que mostraron tanto las frutas que permanecieron todo el tiempo en aire (control) como las frutas que soportaron diferentes días de almacenamiento en AC y cinco días de almacenamiento en aire. Ahora bien, como se ve claramente, no hubo pérdida de color verde en las frutas que se

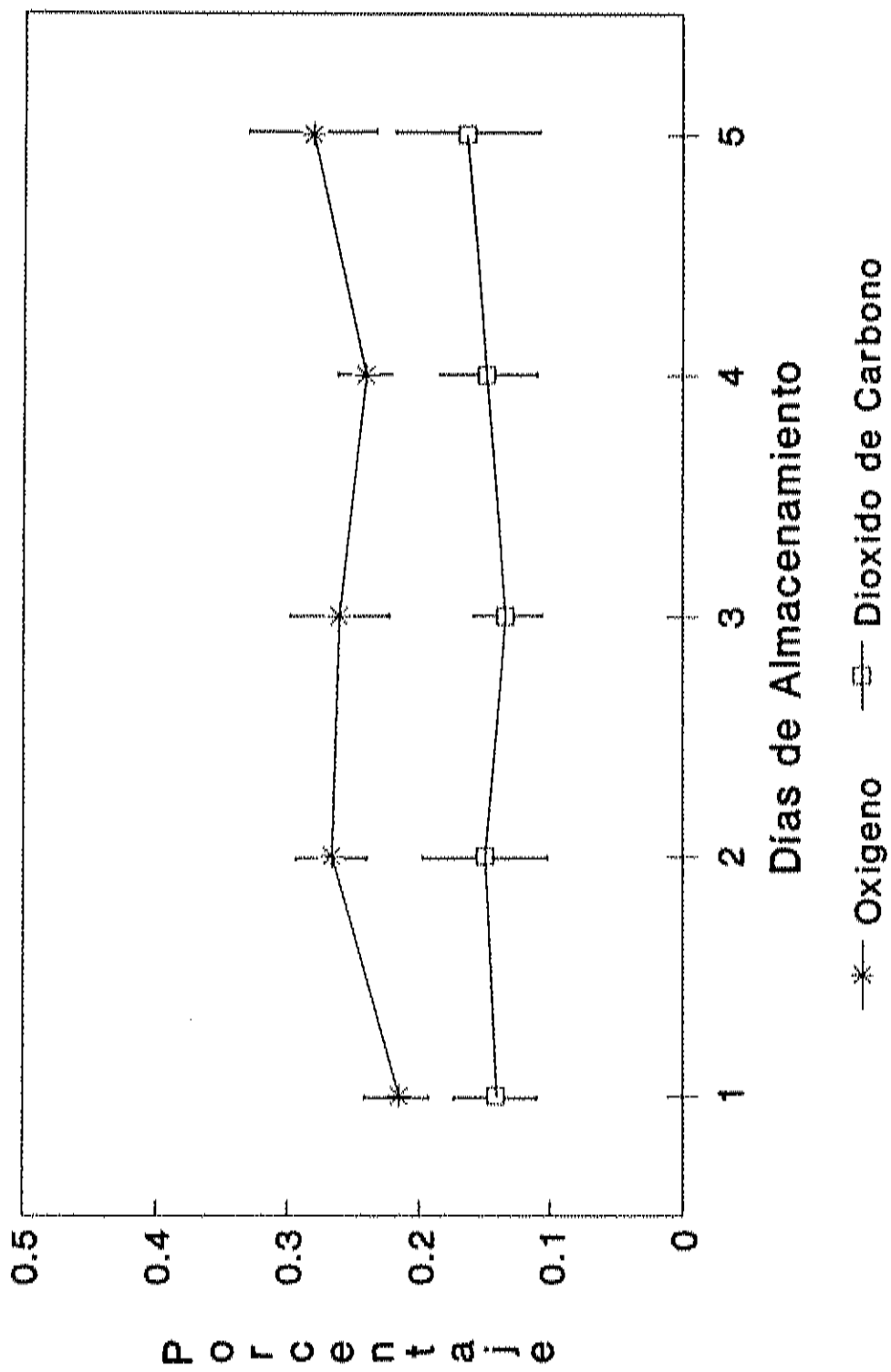


Figura 1. Fluctuaciones en el Porcentaje de O_2 y CO_2 en la Atmósfera Controlada

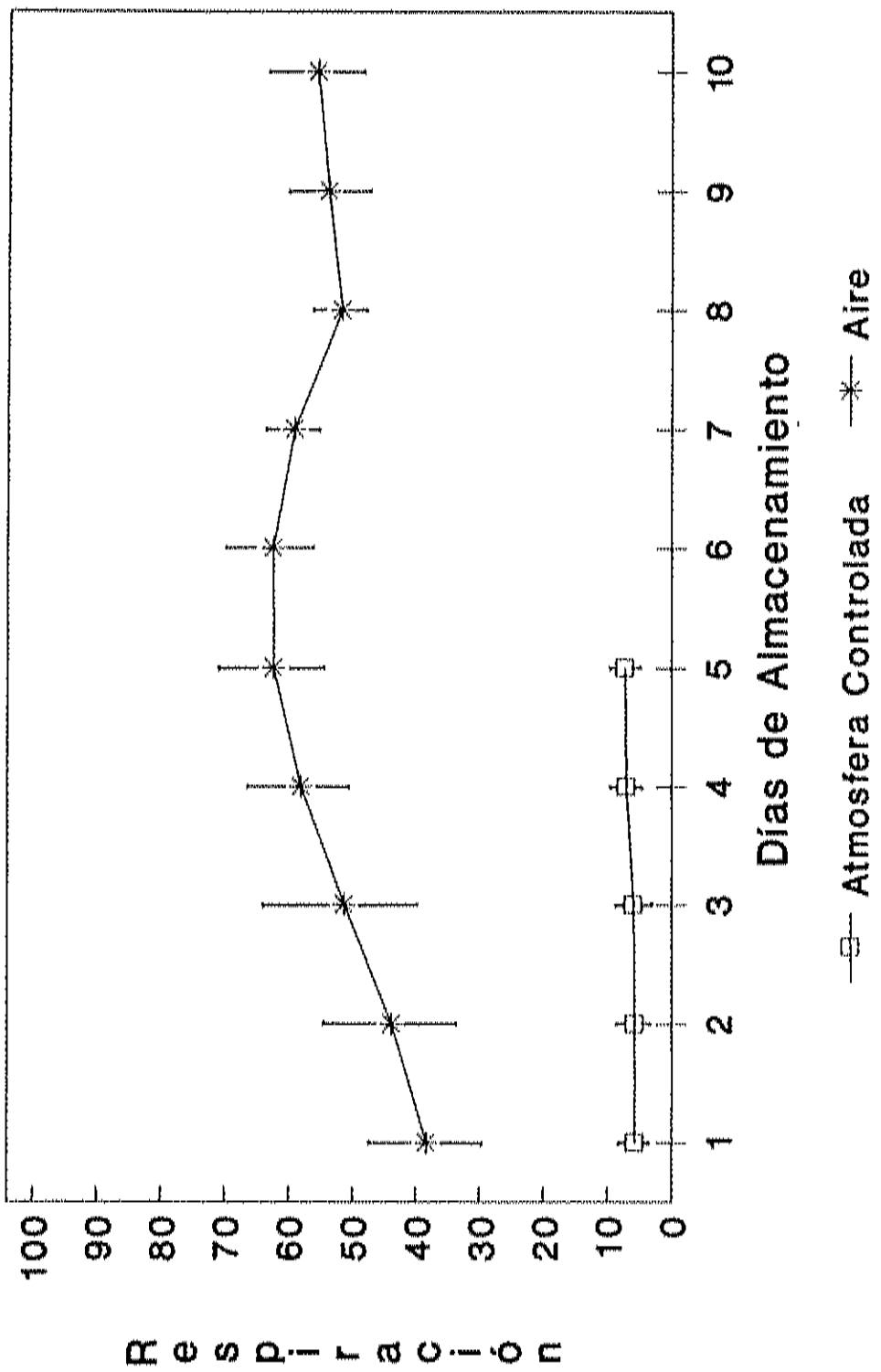


Figura 2. Velocidad de Respiración (mL CO₂/kg-hr) de la Fruta en Aire y en Atmósfera Controlada.

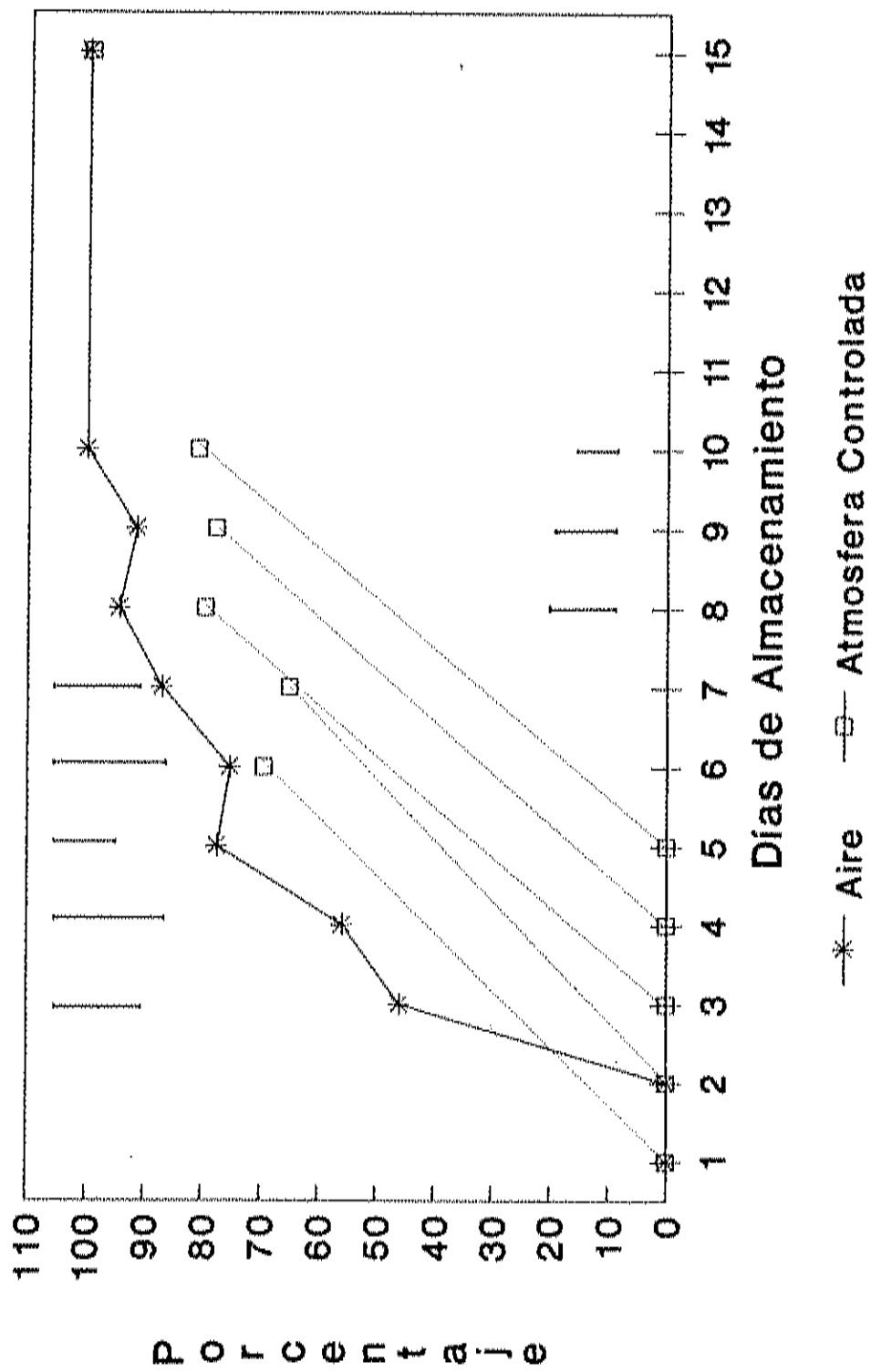


Figura 3. Porcentaje de Pérdida de Color Verde en Frutas en Aire y en Atmósfera Controlada.
 Las líneas verticales indican la diferencia mínima significativa.

encontraban en AC durante los cinco días que duró ésta. Por otra parte, la reducción de este parámetro en las frutas mantenidas en aire se elevó significativamente ($p < 0.05$) a partir del segundo día de almacenamiento. En el almacenamiento subsecuente en aire, las frutas que permanecieron diferentes días en AC y después de cinco días de permanencia en aire, experimentaron una pérdida de color verde menor que el control, lo que fué significativo ($p < 0.05$), en todos los días con excepción del sexto, de acuerdo a las diferencias mínimas significantes (DMS). Por último, en el día 15 de almacenamiento, tanto las frutas control como las almacenadas en AC habían perdido totalmente el color verde ($p > 0.05$).

En la figura cuatro, construída de forma similar, se presenta el comportamiento que siguió la textura de la pulpa de las frutas mantenidas en AC y aire durante el tiempo total de almacenamiento. Se puede observar que las frutas mantenidas en AC, mostraron una textura mayor con respecto a las frutas almacenadas en aire ($p < 0.05$), significativa para todos los días con excepción del tercero. Durante el almacenamiento posterior en aire, las frutas que recibieron el tratamiento por diferentes días en AC, continuaron mostrando mayor textura con respecto a las frutas control ($p < 0.05$); por último, en el día 15 de almacenamiento, la textura tanto de las frutas provenientes del control como del tratamiento fué la misma ($p > 0.05$).

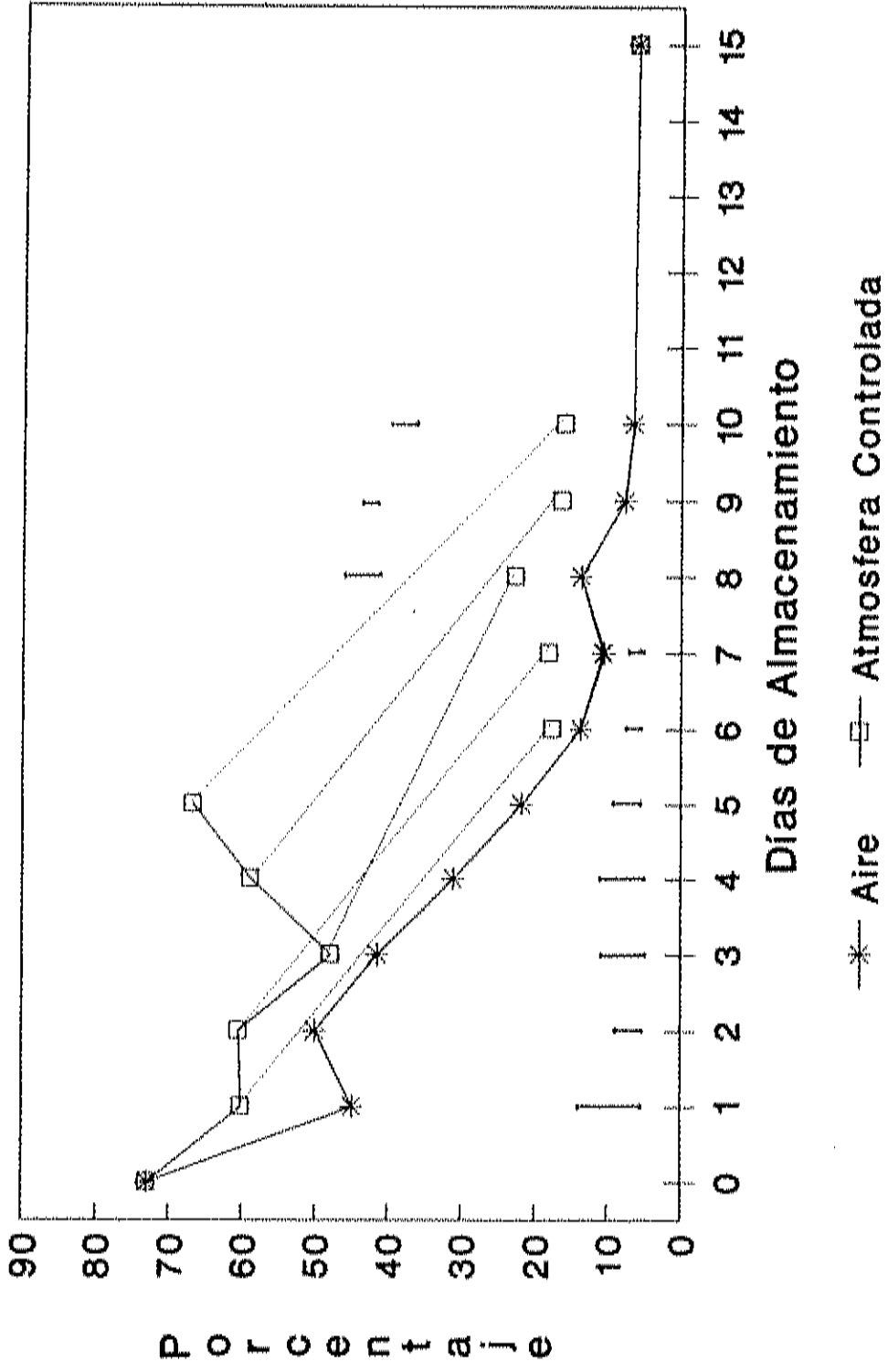


Figura 4. Porcentaje de Pérdida de la Textura en Frutas en Aire y en Atmósfera Controlada. Las líneas verticales indican la diferencia mínima significativa.

La pérdida de peso a través del tiempo de almacenamiento de las frutas control y bajo tratamiento en AC se muestra en la figura cinco. Hay una mayor tendencia a perder peso en las frutas mantenidas en aire en todos los días ($p < 0.05$) con respecto a las frutas en AC, para los primeros cinco días de almacenamiento. Esta tendencia continúa después de que las frutas que estaban en AC pasaron por un almacenamiento de cinco días en aire ($p < 0.05$), como se puede apreciar en la parte derecha de la gráfica. En el último día de almacenamiento, aún subsistía una pequeña diferencia en pérdida de peso entre las frutas control y las del tratamiento ($p > 0.05$).

Análisis Sensorial

El análisis sensorial se llevó a cabo el día 15 de almacenamiento, cuando se consideró que las frutas habían madurado lo suficiente para calificarse como listas para su consumo.

Los resultados del análisis sensorial para aroma, sabor y textura se presentan en la figura 6. En el eje de las abscisas se encuentran los diferentes días de permanencia de las frutas tanto en AC como en aire y en el eje de las ordenadas la escala hedónica utilizada para cada caso. De acuerdo al análisis de varianza realizado, no se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en aroma y textura. Por otro lado, en sabor se descubrieron disminuciones

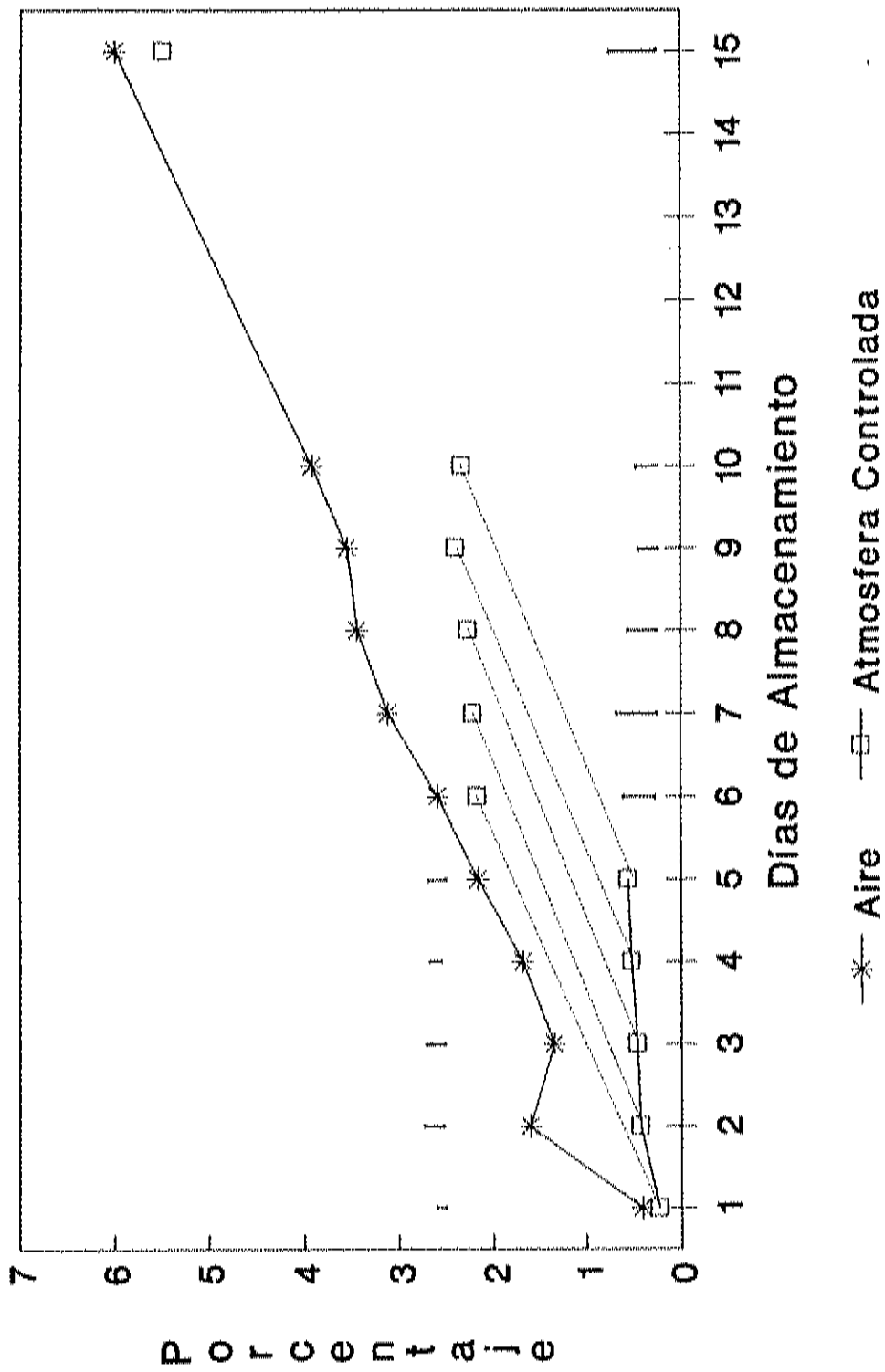


Figura 5. Porcentaje de Pérdida de Peso en Frutas en Aire y en Atmósfera Controlada. Las líneas verticales indican la diferencia mínima significativa.

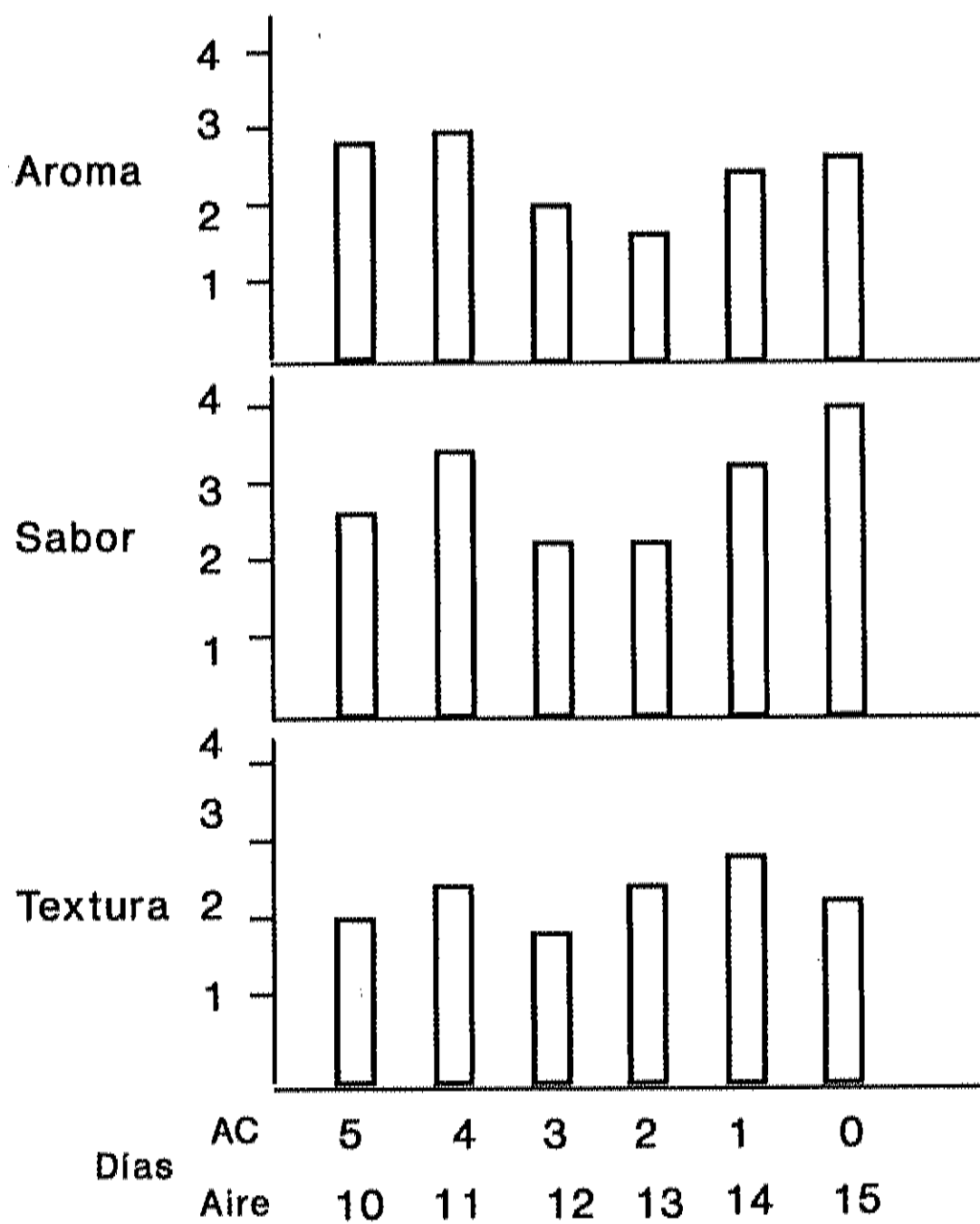


Figura 6. Resultados de la Evaluación Sensorial: Aroma, Sabor y Textura.

significativas con respecto al control para frutas que permanecieron dos y tres días en AC; no observándose lo mismo para los demás tratamientos.

En la figura siete, se encuentran los resultados obtenidos en la evaluación organoléptica de color de cáscara, color de pulpa y aceptabilidad general.

De esta figura, y en base al análisis de varianza, podemos concluir que en ninguno de los tres parámetros organolépticos evaluados se encontraron efectos negativos debidos al tratamiento que se aplicó a las frutas.

Actividad Enzimática

En la figura ocho se encuentran los cambios en actividad específica de la enzima malato deshidrogenasa (MDH) durante todo el período de almacenamiento, tanto para las frutas tratadas como para el control. La explicación de esta figura y las siguientes son concordantes con las mencionadas anteriormente, cuando se analizaron los resultados para la pérdida de color verde. La actividad enzimática de las frutas control es mayor durante los primeros tres días de almacenamiento ($p < 0.05$); sucediendo lo contrario en los dos últimos días, donde la actividad de las frutas tratadas resultó ser estadísticamente mas elevada ($p < 0.05$) con respecto a las frutas en aire. En el almacenamiento posterior en aire, se observa un aumento alternante en actividad de las frutas control y frutas que estuvieron bajo tratamiento, de tal manera que para el día seis, se observa mas actividad en el control, para el día siete, son las frutas que

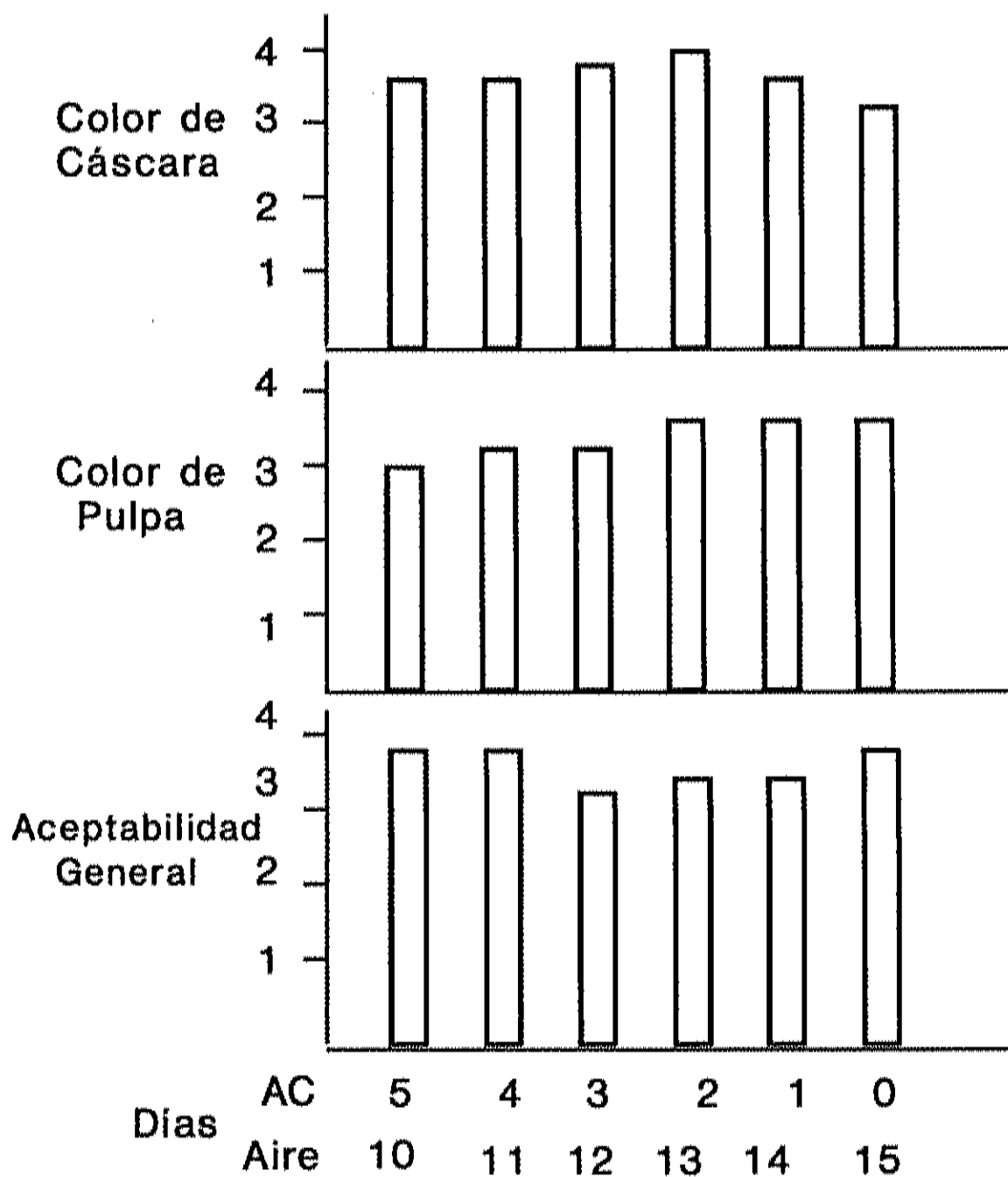


Figura 7. Resultados de la Evaluación Sensorial: Color de la Cáscara y Pulpa; Aceptabilidad General.

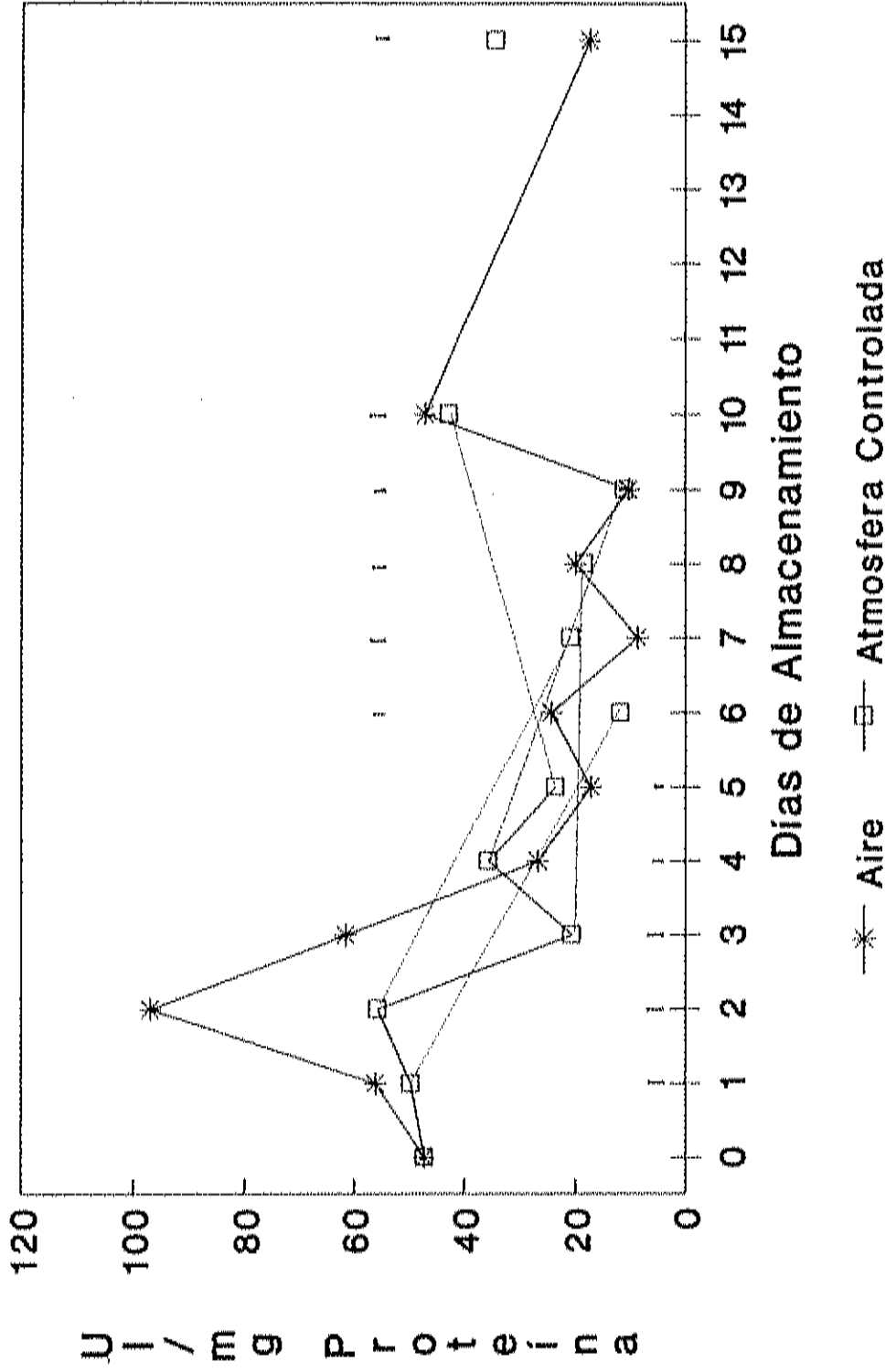


Figura 8. Fluctuaciones en la Actividad Específica de la Malato Deshidrogenasa. Las líneas verticales indican la diferencia mínima significativa.

estuvieron en la AC las que tienen más actividad, etc. Este comportamiento se observa en todos los puntos medidos durante el almacenamiento en aire, encontrándose hacia el día 15 de almacenamiento una mayor actividad en las frutas que estuvieron en AC.

En la figura nueve se muestran los cambios en actividad específica de la enzima isocitrato deshidrogenasa durante todo el período de almacenamiento. Durante los primeros tres días de almacenamiento las frutas control se encontraron con más actividad ($p < 0.05$) con respecto a las frutas bajo tratamiento; posteriormente, en los dos últimos días de almacenamiento encontramos una misma actividad enzimática para ambas frutas ($p > 0.05$). En el almacenamiento posterior en aire, encontramos un aumento brusco en actividad enzimática en el día seis, tanto de las frutas control como en las que estuvieron en AC, donde las primeras poseen más actividad enzimática que las segundas ($p < 0.05$). En el día siete ocurre un descenso en actividad de ambos tratamientos, manteniéndose mayor la actividad del control ($p < 0.05$) y hacia los días nueve y diez, la actividad de las frutas control tiende a aumentar, sucediendo lo contrario para las frutas en AC ($p < 0.05$).

En la figura 10 se resume la actividad específica para la enzima alfa-cetoglutarato deshidrogenasa durante los 15 días de almacenamiento experimental. Como se aprecia, durante los primeros cinco días de almacenamiento en AC, la enzima no fue los dos últimos días de tratamiento se observó una

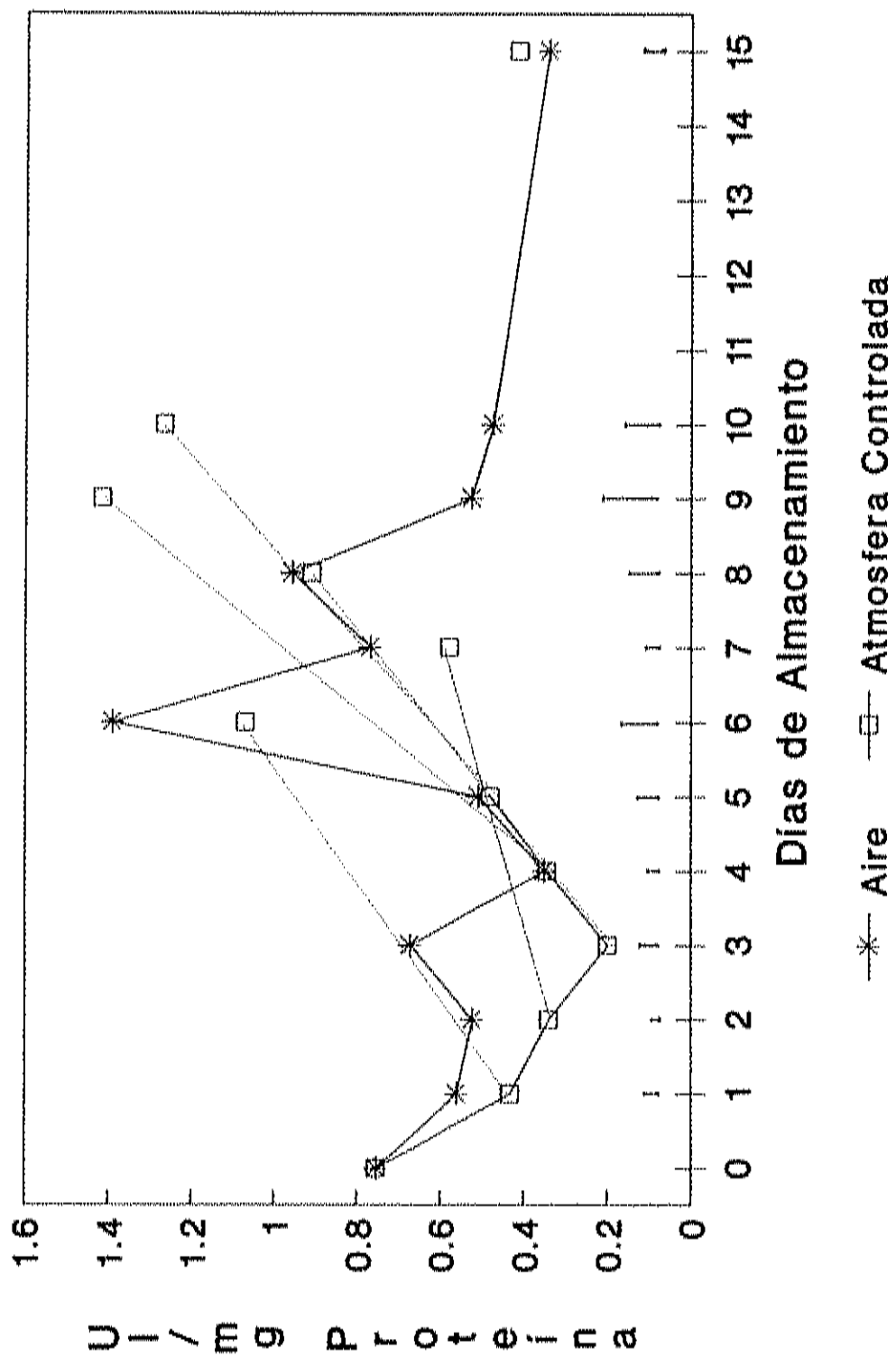


Figura 9. Fluctuaciones en la Actividad Específica de la Isocitrato Deshidrogenasa. Las líneas verticales indican la diferencia mínima significativa.

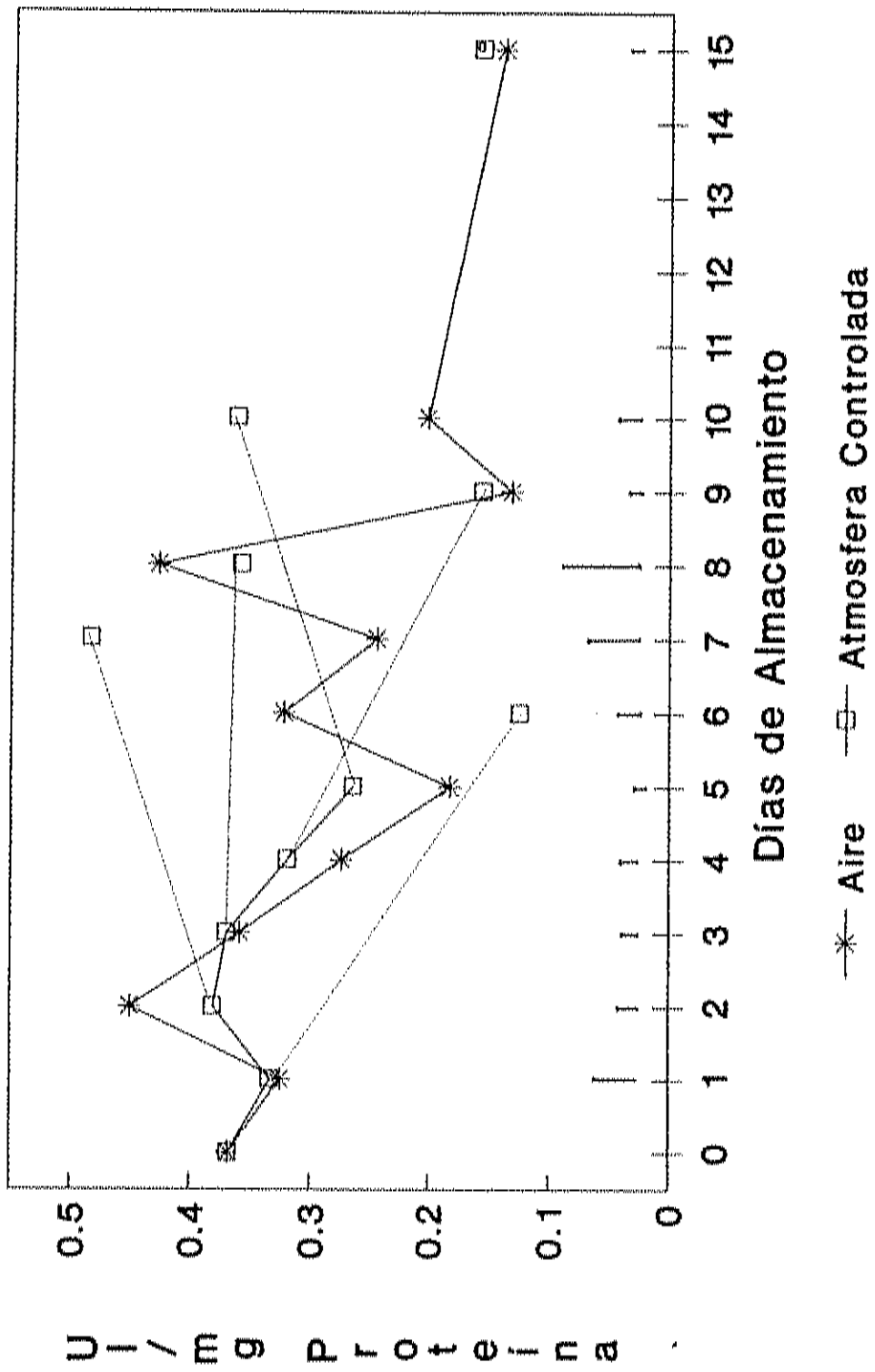


Figura 10. Fluctuaciones en la Actividad Especifica de la α -cetoglutarato Deshidrogenasa. Las líneas verticales indican la diferencia mínima significativa.

actividad ligeramente mayor que en las frutas bajo AC ($p < 0.05$). En el almacenamiento posterior en aire, ocurre un fenómeno parecido al observado para la enzima MDH, esto es, se observan aumentos alternativos en actividad para el control y para las frutas que estuvieron en AC durante los días seis, siete, ocho y nueve. En el día 10, las frutas que estuvieron en AC muestran mayor actividad que las frutas control ($p < 0.05$), y en el día 15, las actividades de ambos tratamientos tienden a igualarse.

En la figura 11 se presenta el comportamiento en la actividad de la enzima succinato deshidrogenasa durante todo el período de almacenamiento para las frutas control y bajo tratamiento en AC.

Durante los primeros tres días de almacenamiento, se encuentra un aumento alternante de actividad en las frutas control y bajo AC; en los dos últimos días, la actividad de las frutas bajo AC fué menor con respecto a frutas en aire ($p < 0.05$). En el almacenamiento subsecuente en aire, ocurre algo similar a los primeros cinco días; esto es, en los días seis, siete, ocho y nueve, observamos un aumento alternante en actividad, primero de las frutas control y después de las frutas que estuvieron en AC. Por último, en el día 10 de almacenamiento las frutas que estuvieron en AC poseen mas actividad ($p < 0.05$), pero esta se iguala con las frutas control en el último día de muestreo.

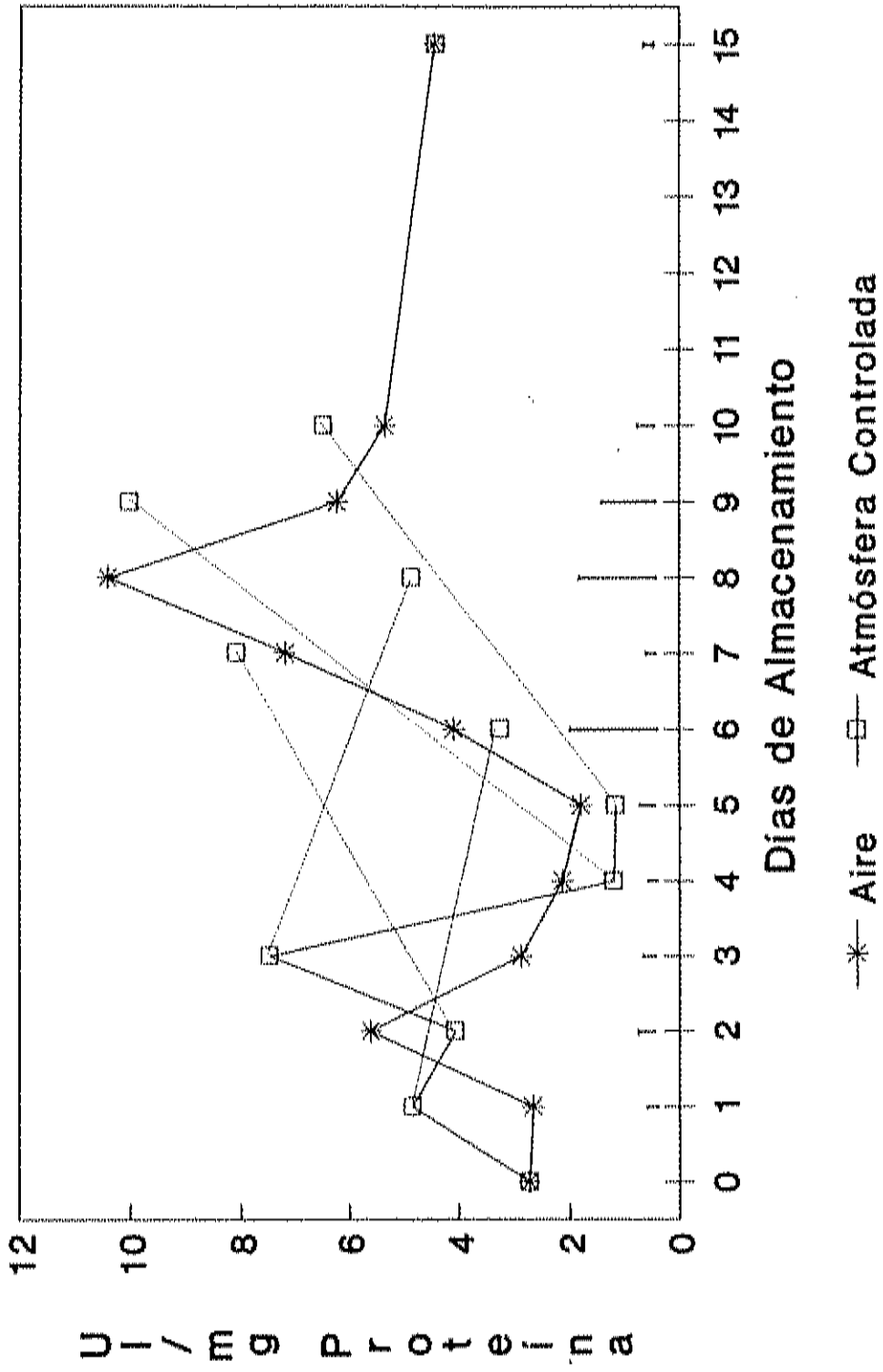


Figura 11. Fluctuaciones en la Actividad Específica de la Succinato Deshidrogenasa. Las líneas verticales indican la diferencia mínima significativa.

Efecto de la Liofilización Sobre La Actividad Enzimática

El efecto que tuvo la liofilización sobre la actividad enzimática se muestra en el cuadro 2. Se encontraron aumentos en actividad para IDH y ACGDH, mientras que se observó lo contrario para MDH. Estos resultados probablemente se deben a que tanto IDH como ACGDH son dos enzimas mitocondriales y el efecto de la congelación y liofilización provocó una destrucción de la membrana mitocondrial, lo que trajo como consecuencia que una mayor cantidad de enzimas se encontrara en solución cuando se llevó a cabo la extracción y como una consecuencia la actividad se encontró aumentada. Por otro lado, MDH existe tanto en la mitocondria como en el citoplasma. La baja en actividad se debe posiblemente a que esta enzima fué afectada por la congelación y descongelación a que estuvo sometida la fruta.

Cuadro 2. Efecto de la Liofilización Sobre la Actividad Específica (UI/mg Proteína) α -Cetoglutarato Deshidrogenasa, Isocitrato Deshidrogenasa y Malato Deshidrogenasa¹

Enzima	Actividad Específica	
	Fresca	Liofilizada
α -cetoglutarato Deshidrogenasa	0.2152 \pm 0.10	0.2682 \pm 0.15
Isocitrato Deshidrogenasa	0.1689 \pm 0.03	0.4604 \pm 0.08
Malato Deshidrogenasa	33.4373 \pm 6.59	12.0840 \pm 3.50

¹ Los números indican el promedio y la desviación estándar de tres frutas en diferente estado de madurez.

DISCUSION

La disminución en la velocidad de respiración debido a la exposición a elevadas concentraciones de CO_2 y/o bajas concentraciones de O_2 es un fenómeno que se ha observado repetidas veces en experimentos con atmósferas controladas, y se ha encontrado que depende de: la temperatura, la duración del tratamiento, la presencia de gases suplementarios, el tipo de producto y de cultivar y estado fisiológico del mismo (Bretch, 1980; Zagory y Kader, 1989). La gran disminución en respiración que se obtuvo en este experimento (12.63% en promedio con respecto al control) fué debida a los niveles de oxígeno utilizados (0.2-0.3%), ya que los niveles de CO_2 que se desarrollaron en la AC, aunque fueron mas altos que los atmosféricos no se consideran lo suficientemente altos como para provocar cambios en la fruta. Debido a esto, todos los efectos observados se pueden atribuir a las bajas concentraciones de oxígeno, y en este sentido no se tiene el inconveniente de muchos experimentos que utilizaron tanto elevadas concentraciones de CO_2 como bajas de O_2 , por lo que no se sabe si el efecto observado es debido ya sea al bajo O_2 , alto CO_2 o a una combinación de ambos factores. Es importante mencionar que actualmente se considera que el efecto debido al CO_2 y O_2 es aditivo, ya que se ha encontrado que 10% de CO_2 provoca el mismo efecto en respiración que 2% de O_2 y que la combinación de niveles bajos de O_2 y altos de CO_2 puede duplicar el efecto de cada uno de los gases por

separado (Kader, 1986). La disminución en respiración se ha observado en otros trabajos con productos tan variados como plátanos y papas (Solomos, 1982), naranjas 'Valencia' (Ke y Kader, 1990), albaricoques, uvas, duraznos, peras y ciruelas (Claypool y Allen, 1948), brócoli (Lieberman y Handenbunrg, 1950); contrariamente a lo anterior, se han encontrado elevaciones en la velocidad de respiración en el caso de limones, berenjena, pepino, chícharo, espinaca y lechuga y ningún efecto en este parámetro para plátanos, uva, mandarina, cebolla, zanahoria, coliflor (Young, et al., 1962; Kubo, et al., 1990). Es importante mencionar que los ejemplos citados anteriormente, son estudios basados en el uso de combinaciones de bajas concentraciones de O_2 y altas de CO_2 , sin embargo dan una idea acerca de que la respuesta de las diferentes frutas a el stress provocado por las atmósferas controladas es muy complicado.

Ahora bien, básicamente se puede considerar que la respiración es una medida de la velocidad con la que están ocurriendo cambios a nivel metabólico en el vegetal (Duckworth, 1979; Burton, 1974); de esto se desprende que si disminuye la respiración, los cambios metabólicos que están ocurriendo en ese momento tardarán mas tiempo en realizarse. Luego entonces, si consideramos un vegetal que se encuentra en su estado maduro fisiológico, como fué el caso de la fruta que se utilizó en este estudio, donde se están empezando a desarrollar los cambios normales que lo conducen al estado de madurez, es lógico suponer que éstos se darán a una velocidad mucho menor de la que normalmente ocurre,

con lo que el estado llamado senescente tardará mas en aparecer (Hansen, 1966). Esto fué precisamente lo que se observó en este trabajo, al medirse los parámetros de cambio de color en cáscara y pérdida de firmeza, que son dos parámetros que acompañan la maduración de frutas (Spurr, 1970; Kader, 1980). El cambio de color en cáscara de una fruta en proceso de maduración es uno de los síntomas mas obvios y fáciles de observar y se debe primariamente a la destrucción de la clorofila y a la síntesis de carotenoides o antocianinas, mientras que la pérdida de firmeza, que es un fenómeno importante debido a que le confiere a las frutas la textura adecuada para su consumo, se lleva a cabo debido a la activación de las enzimas poligalacturonasas y celulasas que actúan solubilizando los materiales pécticos de la pared celular (Dostal, 1970).

Como ya se mencionó, acompañando a la disminución en respiración de las frutas que se encontraban en AC, se observó que la firmeza y el color de la cáscara de la fruta prácticamente permanecieron sin alterarse con respecto a los cambios que se observaron en las frutas control, de lo cual podemos deducir que el proceso de maduración del mango disminuyó y se tradujo en un tiempo mayor de permanencia de la fruta con las características óptimas para su consumo y lo que es mas importante, sin el uso de productos químicos que pueden dejar residuos peligrosos para la salud; y desde este punto de vista, éste método para alargar la vida postcosecha de las frutas está de acuerdo con las

últimas tendencias hacia un uso cada vez menor de químicos en frutas y hortalizas (Anónimo, 1987; Petersen y Chaisson, 1988; Anónimo, 1990).

Ahora bien, desde hace tiempo ya se ha mencionado como parte de los beneficios de las AC, la retención por mayor tiempo de la clorofila (Wang, et al., 1971), o color verde, como fué evaluado en nuestro caso, y de firmeza en la pulpa de los vegetales (Bretch, 1980; Zagory y Kader, 1989; Kader, 1986; Kader, et al., 1989); solo que casi siempre se mencionan como un efecto conjunto debido a una baja concentración de O₂ y a una alta concentración de CO₂. Específicamente en atmósferas donde se utilizó bajo oxígeno únicamente, se ha encontrado una mejor retención del color con disminuciones cada vez mayores en la concentración de oxígeno en manzana 'Cox' verde madura (Sharples, 1982), en tomate (Kim y Hall, 1976; Salunkhe y Wu, 1973), en cerezas 'Bing' almacenadas en 0.5-2.0% de oxígeno (Chen, et al., 1981), en apio almacenado de 0 a 12 semanas en 1% de O₂ (Tabacchi, et al., 1978), en peras (Blanpied y Hansen, 1968), y en Brócoli también se han observado mejores retenciones del color verde (Lieberman y Handenburg, 1950, Lieberman y Handenburg, 1954). En cuanto a una mejor retención en firmeza, se ha observado esto en manzana 'McIntosh' (Dewey y Bourne, 1982; Lau, et al., 1987; Yahia et al., 1991c), peras 'Anjou' y 'Packam's Triumph', donde se obtuvo una relación aproximadamente lineal entre la disminución de oxígeno y la retención de firmeza (Blanpied y Hansen, 1968), manzana de la variedad 'Richared' y 'Delicious', donde se

encontró una mejor retención de firmeza conforme fué menor la concentración de oxígeno en la atmósfera (Anderson, 1967), manzana 'Spartan' (Lau, 1983), manzana 'Golden Delicious' (Lau y Looney, 1982), manzana 'Cox' (Sharples, 1982), peras 'Anjou' (Hansen, 1957), peras 'Conference' (Knee, 1982) y en tomate, donde se observó mayor firmeza en frutas almacenadas en niveles menores de oxígeno después de dos semanas (Kim y Hall, 1976).

Otro parámetro evaluado en el presente trabajo fué el porcentaje de pérdida de peso que fueron experimentando las frutas con respecto al tiempo. El estudio de este parámetro es importante debido a que esencialmente las pérdidas postcosecha en peso que experimentan los vegetales son básicamente debidas a la pérdida de agua, que puede incluso llegar a ser una de las principales causas de deterioración, ya que no solo se traduce en pérdidas económicas sino que causa deterioro en apariencia debido al marchitamiento, pérdida de textura (flacidez, jugosidad, etc), y calidad nutricional (Kader, 1986). En este trabajo se encontró una mejor retención de peso en las frutas tanto durante el tratamiento en AC como durante el almacenamiento subsecuente de estas frutas en aire. Esto no se considera un efecto directo debido a la AC, sino mas bien indirecto, ya que debido al tipo de sistema utilizado en nuestro experimento, se desarrolló un ambiente con alta humedad relativa, lo que ayudó a evitar la transpiración y las pérdidas de peso durante el almacenamiento en la AC (Kader, 1986).

Evaluación Sensorial

De acuerdo a los resultados de la evaluación sensorial, se puede considerar que no hubo efectos negativos por el tratamiento en la fruta debido a la AC. Ahora bien, aunque ocurrieron disminuciones significativas en sabor para frutas con dos y tres días de permanencia en AC, este hecho no se considera un efecto del tratamiento, ya que frutas con mas tiempo de permanencia no mostraron diferencias con respecto al control. Este resultado es sumamente importante, ya que se puede considerar seguro someter mango a atmósferas controladas con bajas concentraciones de O₂ hasta por cinco días sin esperar cambios organolépticos que puedan provocar rechazo del producto por parte del consumidor.

Desde hace tiempo se ha considerado que una atmósfera con concentraciones de O₂ de 1-2%, es necesaria para evitar el cambio de la respiración aeróbica a anaeróbica (Kader, 1986); la cual se caracteriza por la producción de metabolitos con niveles intermedios de oxidación que pueden acumularse, como son el acetaldehído (Fidler, 1968; Thomas, M.A., 1929; Smilanick y Fouse, 1989; Ke et al. 1990; Yahia, et al. 1991a; Yahia, et al. 1991b), lactato (Solomos, 1982; Yahia, et al. 1990a) y etanol (Thomas, 1929; Amla y Francis, 1960; Fidler, 1968; Saltveit y Ballinger, 1983; Smilanick y Fouse, 1989; Ke et al. 1990; Yahia, et al. 1991a; Yahia, et al. 1991b), y dar origen al desarrollo de sabores y olores indeseables (Amla y Francis, 1960; Kader, 1986; Kader y Morris, 1977). En el presente

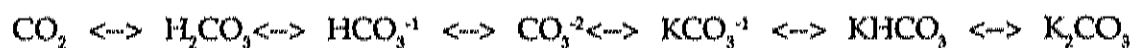
trabajo se usaron niveles menores de oxígeno y no se detectó la presencia de efectos organolépticos negativos. Sin embargo, es posible que algunos productos si se vean afectados por estas condiciones, como es el caso de los camotes durante el proceso de curado que se tornan insípidos por la exposición a concentraciones muy bajas de oxígeno (Delate y Brecht, 1989); el de papas 'Monona' y 'Norchip' que desarrollaron colores oscuros en la parte central de la fruta, por exposición a condiciones anaeróbicas, durante su permanencia subsecuente en aire (Mark, et al., 1978); el de naranjas 'Valencia' almacenada en concentraciones de O_2 de hasta 0.02% que experimentan decrementos en sabor (Ke y Kader, 1990), el de manzana var. 'Cox' que fué menos dulce y aromática (Sharples, 1982), el de manzanas de las variedades 'Spartan' y 'Delicious' que tendieron a desarrollar encafecimiento de la pulpa y sabores a alcohol (Lau, 1990), el de manzanas 'Newton Wonder' y peras que mostraron encafecimiento de diferentes partes de la pulpa (Thomas, 1929; Thomas, 1931), el de naranjas 'Valencia' almacenadas a 0.02%, 0.25% y 0.5% de O_2 , que mostraron producciones elevadas de alcohol y acetaldehído que correlacionaron bien con la disminución en la calificación organoléptica de sabor en las frutas (Ke y Kader, 1990), el de brócoli que desarrolló olores muy desagradables (Lieberman y Handenburg, 1950; Kasmire, et al. 1974) y el de peras almacenadas durante ocho meses a 1% de O_2 , que perdieron mas rápidamente la textura con respecto a las frutas control (Chen y Mellenthin, 1982); contrariamente a esto,

algunos productos no sufren cambios detrimentales en su calidad organoléptica, bajo niveles bajos de oxígeno como es el caso de manzana de las variedades 'McIntosh' y 'Spartan' almacenadas en concentraciones de 0.75% y 1.0% de oxígeno respectivamente (Dewey y Bourne, 1982; Lau, 1983), apio almacenado durante 12 semanas en 1% de O₂ (Tabacchi, et al., 1978) y peras 'Anjou' almacenadas a 1% de O₂ (Hansen, 1957).

Actividad Enzimática

Anteriormente, se habló de los cambios macroscópicos que se observan en las frutas por la exposición a niveles bajos de oxígeno, esto es, disminución en la velocidad de respiración y retardo en la aparición de las características de las frutas que las hacen apetecibles al gusto (color, textura adecuada, etc.). Sin embargo, desde hace tiempo se ha insistido en que para poder explicar, predecir y de esta forma evitar los efectos debidos a la AC, es necesario llevar a cabo análisis a nivel fisiológico y/o bioquímico (Thomas, 1929; Lipton, 1977; Kader, 1986); ya que se ha encontrado una gran variación en la respuesta de las frutas a estos tratamientos, variación que incluso puede ocurrir de una cosecha a otra, de un huerto a otro o de una variedad a otra de la misma fruta (Bretch, et al., 1973; Kader, 1980; Lau, 1990; Sharples, 1982; Knee, et al., 1990). Desafortunadamente para los propósitos de esta discusión, los trabajos que se han realizado hasta ahora han utilizado diversos niveles de O₂ y de CO₂, y las explicaciones que se

han desarrollado para tratar de entender el mecanismo básico por medio del cual las AC son capaces de afectar a la fruta, se han basado en capacidad de solubilización del CO_2 en el medio acuoso celular, mediante el siguiente mecanismo:



De acuerdo a éste, la capacidad buffer de un tejido dependerá tanto de la presión parcial del CO_2 en el espacio intercelular, que provoca mayor o menor disolución del gas en el ambiente citoplasmático, como de la concentración de cationes disponibles (Smock, 1979). De aquí, si consideramos una cantidad de CO_2 disuelto que pueda sobrepasar la concentración de cationes disponibles, ocurrirá la acumulación de CO_2 disuelto en equilibrio con el ácido carbónico y el carbonato monobásico. Este fenómeno puede producir disminuciones de pH (Siripanich y Kader, 1986); disminución en actividades de algunas enzimas de ciclo de Krebs (Shipway y Bramlage, 1973) y de glucólisis (Kerbel, et al., 1988); disminuciones en la actividad de succinato deshidrogenasa (Bendall, et al., 1960; Frenkel y Patterson, 1973; Shipway y Bramlage, 1973); acumulación de succinato (Hulme, 1956; Ranson, 1953; Murata y Minamide, 1970; Wankier, et al., 1970; Wager, 1974; Morris y Kader, 1977; Ranson, et al., 1957) el cual se ha encontrado que es tóxico para los vegetales (Neal y Hulme, 1958; Murata y

Minamide, 1970; Lau y Looney, 1978) aunque existen resultados indicando lo contrario (Morris y Kader, 1977); aumento de la acumulación de ácido málico por medio de reacciones de carboxilación enzimáticas (enzima málica), lo que puede contribuir a una disminución de pH (Hansen, 1966; Murata y Minamide, 1970; Ranson, 1953; Kollas, 1964) además del efecto tóxico que tiene este ácido *per se* (Murata y Minamide, 1970); inhibición de la actividad del sistema succínico-oxidasa (Ranson, *et al.*, 1957) con la consecuente acumulación de succinato; inhibición de la actividad del sistema citocromo-oxidasa (Miller y Evans, 1956; Bendall, *et al.*, 1960) que trae como consecuencia una disminución en la velocidad de respiración y una posible acumulación de ácidos orgánicos por la disminución en actividad de ciclo de Krebs, como se ha sugerido en algunos trabajos como explicación a la mayor concentración de ácidos que forman parte de este ciclo (Chen y Mellenthin, 1982; Baxter y Waters, 1990).

Además de lo anterior, el CO_2 se ha encontrado relacionado con cambios estructurales en mitocondria (Frenkel y Patterson, 1974), que podrían ser los causante de la disminución en actividad de la enzima succinato deshidrogenasa, la cual se encuentra embebida en la membrana y requiere que ésta no se encuentre dañada para su funcionamiento óptimo (Lehninger, 1975). De acuerdo a todo lo expuesto anteriormente, pareciera que es realmente el alto nivel de CO_2 el responsable de los cambios mas severos a nivel bioquímico que provocan los efectos externamente observables en los vegetales. Sin embargo, se ha

encontrado que algunos de los efectos que se han observado bajo elevadas concentraciones de CO_2 también ocurren en bajas concentraciones de O_2 .

En este punto citaré algunos trabajos que han utilizado únicamente niveles bajos de oxígeno y los cuales han encontrado lo siguiente: acumulación de ácido succínico en peras 'd'Anjou' almacenadas a 1% de O_2 por ocho meses (Chen, et al., 1981) y en Zanahoria, hojas de Kalanchõe y avena expuestas durante 12 horas, 3 días y 1 día respectivamente a 1% de O_2 (Ranson, 1953) aunque tampoco se han encontrado diferencias en la proporción de ácido succínico por exposición a niveles de 1% de oxígeno en peras 'd'Anjou' (Lee, et al., 1990); disminución en la actividad de succinato deshidrogenasa en semillas de *Echinochloa crus-galli* 'Oryzicola' en condiciones anaeróbicas (Kennedy, et al., 1987). También, se encontró que la disminución en actividad de el sistema succínico-oxidasa observado *in vitro* no se debía al CO_2 , sino a un cambio en las propiedades floculantes del sistema empleado en la celda de Warburg debido a la concentración de bicarbonato empleada (Bonner, 1950).

Por último, un trabajo donde se aplicó a manzanas 'Golden Delicious' soluciones 0.05 M de malonato, el cual se considera un inhibidor de la respiración ya que bloquea la actividad de la enzima succinato deshidrogenasa provocando acumulaciones de ácido succínico, encontró que los daños que se desarrollaron en la piel eran muy diferentes a los que se desarrollan debido a daños por elevados niveles de CO_2 (Lau y Looney, 1978).

En base a lo anterior, los efectos que se han observado por la presencia de elevadas concentraciones de CO_2 , también se han observado en su ausencia. Entonces, de acuerdo a esto, podemos preguntarnos cual es realmente el principio causal de los efectos que se observan en frutas por la exposición a los tratamientos en AC.

Ahora bien, si comparamos nuestros resultados con los que se reportan en cuanto a actividad de succinato deshidrogenasa, llegamos a la conclusión de que no concuerdan ni con los hallazgos bajo altos niveles de CO_2 , ni con los de bajo O_2 y en realidad, en lugar de arrojar mas luz para tratar de explicar los efectos a nivel bioquímico, aumentan mas la confusión y no permiten apoyar o refutar la teoría de los efectos debidos a la presencia de CO_2 , aunque sugieren que podrían existir otras causas provocando la disminución en la actividad de succinato deshidrogenasa que se ha observado en algunos trabajos.

Por otro lado, la medición de la oxidación de malato y alfa-cetoglutarato por mitocondria de manzana (Shipway y Bramlage, 1973), un parámetro que indica indirectamente la actividad de las enzimas que utilizan estos ácidos orgánicos como sustratos, encontró un aumento y una disminución, respectivamente, y de manera progresiva debido a niveles de CO_2 -Bicarbonato de 6% a 18%; contrariamente, en el presente trabajo se encontró disminución en la actividad de malato deshidrogenasa y ningún efecto importante sobre la enzima alfa-cetoglutarato deshidrogenasa debido. Con esto, llegamos a una conclusión

parecida a la encontrada al analizar los resultados en actividad de succinato deshidrogenasa, esto es, pueden existir otras causas provocando los cambios en actividad enzimática de malato deshidrogenasa además del CO_2 ; reforzando lo anterior, algunos trabajos han encontrado disminuciones en la acumulación de malato en bajos niveles de oxígeno, debidas posiblemente a aumentos en actividad de la enzima (Sherman y Ewing, 1983).

Por otro lado, la disminución en la actividad enzimática en las frutas bajo AC durante los primeros tres días de almacenamiento, no se encuentra relacionada con la baja velocidad de respiración que tuvo el vegetal, ya que la respiración se mantuvo a nivel bajo durante los cinco días, mientras que la actividad enzimática se normalizó en los dos últimos días de almacenamiento en AC, para continuar así posteriormente. Este aparente retorno a la normalidad durante los dos últimos días de almacenamiento, se observa también en la enzima alfa-cetoglutarato deshidrogenasa, que es considerada un punto de control para el ciclo de Krebs, al igual que isocitrato deshidrogenasa. El retorno a la normalidad desde el punto de vista enzimático se refuerza con los resultados del análisis sensorial, donde no se encuentran efectos debido a la permanencia de la fruta bajo AC y así podemos decir que la fruta se comportó normalmente y alcanzó un buen estado de madurez, desde el punto de vista organoléptico. Esto permite concluir que los cambios a nivel metabólico que ocurrieron durante el almacenamiento en AC fueron de tipo transitorio.

Por otro lado, considerando los reportes de la literatura anteriormente mencionados y en base a los resultados del presente trabajo no se puede refutar la hipótesis de que los efectos de las AC pueden deberse a las propiedades que posee el CO_2 , aunque considero importante considerar que los resultados a nivel bioquímico que se han encontrado bajo altos niveles de CO_2 , también se han encontrado en ausencia de éste. Esto no necesariamente invalida la hipótesis basada en las propiedades del CO_2 al disolverse en el citoplasma, pero sugiere que es posible existan otras causas gobernando el comportamiento metabólico de la fruta bajo los tratamiento en AC. En este punto, voy a tratar de establecer una de las posibles causas que podrían estar provocando la acumulación de succinato, hecho que se ha reportado en una gran cantidad de trabajos que han estudiado los efectos de las AC sobre las frutas a nivel metabólico, y que hasta ahora se ha considerado debido a la disolución de CO_2 en el citoplasma.

Estudios realizados en la célula de *Selenastrum minutum* (Naeg.) Collins sugieren que el ciclo de Krebs puede estar funcionando principalmente para tratar de proveer de esqueletos de carbono al metabolismo, aún cuando se encuentre detenido el transporte de electrones. La importancia de este hecho se debe a que la adaptación que sufre el ciclo de Krebs en estas condiciones aneróbicas tiene como producto terminal al succinato (Vanlerberghe, et al., 1989), lo que puede explicar porque este metabolito se eleva en frutas

expuestas a AC, condición que puede provocar, el desarrollo de regiones anaeróbicas en la fruta.

El camino metabólico que se propone, como se observa en la figura 12, parte de oxaloacetato para llegar a succinato, con lo que el ciclo actúa de forma contraria a como normalmente lo hace. Luego entonces, en realidad la acumulación del metabolito no se debe a que elevadas concentraciones de CO₂ provocan efectos negativos en la enzima succinato deshidrogenasa, sino a la activación del camino que se mencionó. Es importante hacer la aclaración de que estos resultados surgieron de un estudio donde la célula se encontraba en dos situaciones de stress: falta de oxígeno y de amonía (Vanlerberghe, *et al.*, 1989). Sin embargo, en condiciones anóxicas, este mismo camino metabólico se ha sugerido que opera en levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*), donde se ha observado un aumento en la actividad de las enzimas fumarato reductasas, que son responsables de la síntesis última del succinato (Heerde y Radler, 1978; Lupiañez, *et al.*, 1974). En *Streptococcus lactis* se ha encontrado que la síntesis de succinato se lleva a cabo mediante la enzima fumarato reductasa (Hillier y Jago, 1978).

Además de lo anterior, sugiriendo fuertemente la posibilidad de ser una respuesta metabólica utilizada universalmente por seres vivos que tienen que enfrentar condiciones anóxicas en su medio, este tipo de adaptación se ha encontrado operativa en muchos invertebrados (Hochachka, 1980; Hochachka y Mommsen, 1983). Reforzando los resultados anteriores, se ha encontrado

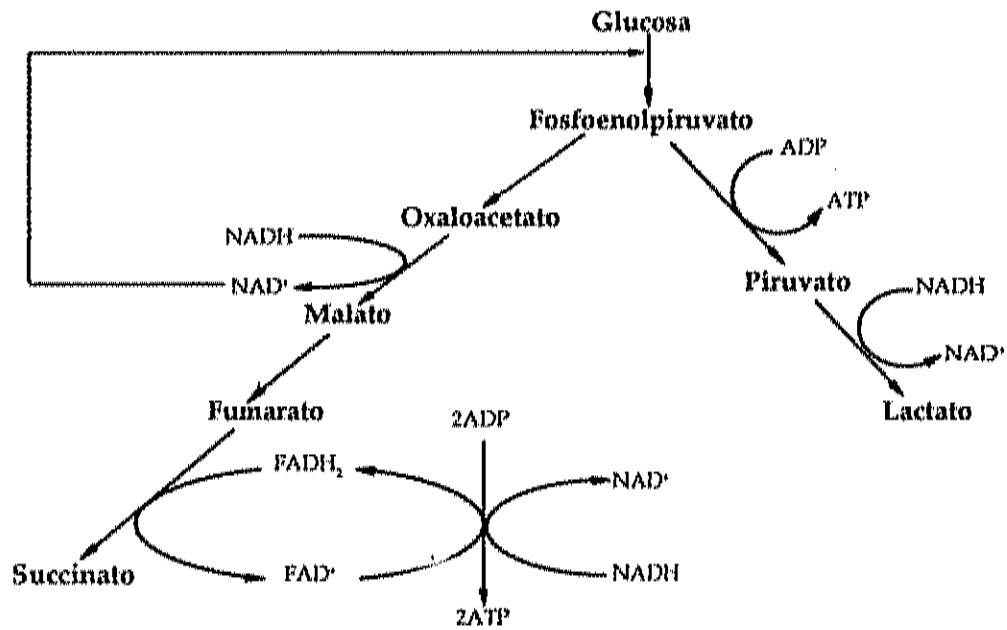


Figura 12. Adaptación del Ciclo de Krebs a Condiciones Anaeróbicas

Tomado de: Hochachka, 1980

acumulación de succinato bajo condiciones anóxicas en arroz, *Echinochloa*, maíz, centeno, cebada y trigo (Menegus, *et al.*, 1989). De acuerdo a lo anterior, pueden existir otras causas provocando acumulación de succinato en un vegetal además del efecto directo que tiene la presencia de altas concentraciones de CO_2 .

Ahora bien, la importancia de que ocurra acumulación de este metabolito en plantas bajo anoxia se debe a varias causas: el vegetal eleva la cantidad de ATP obtenidos a partir de glucosa con respecto a los que obtendría si usara únicamente la glucólisis como camino productor de energía (Hochachka y Mommsen, 1983), además, se ha sugerido que la producción de succinato hace que un vegetal pueda soportar mas fácilmente condiciones aneróbicas, ya que se ha encontrado que la resistencia a la anoxia en ciertas plantas se encuentra muy relacionada con la producción succinato (Menegus, *et al.*, 1988) o al hecho de que producen mayormente succinato con respecto a lactato, con lo que el pH del medio celular no se torna tan ácido (Menegus, *et al.*, 1989), lo cual es importante en la sobrevivencia de la célula a la anoxia (Roberts, *et al.*, 1985; Roberts, *et al.*, 1989). Además de la producción de lactato y succinato como mecanismos para soportar condiciones de anoxia, se ha encontrado que ciertas células vegetales tienden a sintetizar *de novo* piruvato descarboxilasa y alcohol deshidrogenasa (Laszlo y Lawrence, 1983; Tihany, *et al.*, 1989), lo cual ha llevado a pensar en que estas dos enzimas y principalmente alcohol deshidrogenasa,

se encuentran muy relacionadas con la capacidad de la célula vegetal para soportar períodos de anoxia. Estas conclusiones son apoyadas por estudios donde se ha observado que las condiciones anóxicas inducen la síntesis de isoenzimas de alcohol deshidrogenasa con una mayor afinidad por el NADH, lo que se considera indicativo de un mecanismo para tratar de contrarrestar la desviación del piruvato hacia lactato, lo cual puede provocar disminuciones letales en el pH citoplasmático (Hanson, *et al.*, 1984). Contrariamente a lo anterior, existen estudios indicando que la enzima alcohol deshidrogenasa no se encuentra relacionada con la resistencia de las células vegetales a la anoxia (Vantoai, *et al.*, 1985).

Ahora bien, para que ocurran los cambios metabólicos de los que se ha estado hablando, es necesario que antes se den condiciones aneróbicas estrictas en los alrededores de la célula. Luego entonces, es importante tratar de conocer las causas de que depende la formación de condiciones ya sea estrictamente anaeróbicas, o de niveles muy elevados de CO₂ o muy bajos de O₂, en ciertas zonas de un vegetal que se encuentre en una atmósfera controlada. Las condiciones que se desarrollen en la vecindad de la célula del vegetal, serán responsables en última instancia de los cambios bioquímicos. El conocimiento de estas causas ayudará a conocer las razones por las cuales las respuestas de los vegetales a el stress provocado por las AC son tan variadas.

Es realmente difícil tratar de encontrar una causa común que sirva para explicar como es que se desarrollan las condiciones de las que hemos estado hablando en la vecindad de las células; sin embargo, me gustaría en este punto exponer una hipótesis para tratar explicar un poco las causas responsables del desarrollo de determinadas condiciones con altos niveles de CO_2 y bajos de O_2 . Antes de continuar, es importante exponer dos principios de los cuales es necesario partir: Primero, es posible que existan variaciones en la maquinaria metabólica de los diferentes vegetales; Segundo, es muy difícil que la cantidad de oxígeno que existe en el ambiente que normalmente se crea en un tratamiento con AC sea tan pequeña como para evitar el funcionamiento del complejo citocromo oxidasa, debido principalmente a que esta enzima funciona con una constante de Michaelis muy baja (Mapson y Burton, 1962; Burton, 1974; Solomos, 1982), aunque considero factible la posibilidad de que se formen zonas en la fruta con condiciones totalmente anaeróbicas.

De acuerdo a los principios expuestos anteriormente, la razón por la que existen diferencias en cuanto a resistencia a la anoxia en diferentes vegetales se debe principalmente a la forma como estos responden a nivel metabólico y a las condiciones de atmósfera que se crean en la vecindad celular. El tipo de condiciones que se pueden crear en el medio circundante de una célula vegetal de un producto sometido a condiciones de atmósfera controlada, se encuentran muy relacionadas con la facilidad con la que se difunden los gases atmosféricos

dentro de la fruta y las diferencias en permeabilidad tanto de la pulpa como de la cáscara de las diferentes frutas a el CO_2 y O_2 (Burg y Burg, 1965; Weichman, 1977; Rajapakse, *et al.*, 1990); la parte estructural del vegetal por donde se da mayormente el intercambio, ya que se ha encontrado que puede ocurrir ésto a través de la parte floral final, lenticelas o estomas y la cutícula (Burg y Burg, 1965; Kader, *et al.*, 1989); la cantidad de espacio intercelular característico de cada fruta, en donde hay variaciones desde menos de 1% para algunas papas (Burton, 1950), hasta 36% para manzana 'Lord Derby' (Burton, 1974) y el tipo de componentes de los cuales está formada la cáscara, ya que se ha visto que para frutas con cutícula cerosa existe una mayor facilidad de paso para el O_2 (Burg y Burg, 1965).

Ahora bien, cuando una determinada fruta se somete a un almacenamiento en AC con bajo oxígeno, se llevan a cabo los siguientes pasos para lograr el equilibrio: 1). La combinación del oxígeno disuelto en el citoplasma con la enzima citocromo oxidasa o alguna otra, con lo que se reduce la concentración de este gas en citoplasma que se encuentra en equilibrio con la fase gaseosa en el espacio intercelular; 2). Movimiento de oxígeno de la fase gaseosa del espacio intercelular hacia el citoplasma para tratar de lograr de nuevo el equilibrio, con lo que se altera el equilibrio entre la fase gaseosa de el espacio intercelular y la atmósfera circundante de la fruta; 3). Entrada de oxígeno de la atmósfera exterior hacia el espacio intercelular para alcanzar el equilibrio entre estas dos

fases (Burton, 1974). La eficiencia en el proceso de difusión de gases de la atmósfera hacia el espacio intercelular de diferentes vegetales, depende de su volúmen, su continuidad, la proporción de el espacio lleno de gas o inyectado de líquido, los niveles de oxígeno requeridos y los correspondientes niveles de CO₂ liberados por la célula vegetal (Burton, 1974; Rajapakse, et al., 1990).

De los anteriores hechos, podemos deducir que existe la posibilidad de que en un vegetal respirando a velocidades muy elevadas, podría sobrepasar la capacidad de aereación de el espacio intercelular, con lo que se tendrían gradientes de concentración de oxígeno y CO₂ de la periferia hacia el centro con aumento en la concentración de CO₂ y disminución en la concentración de O₂. Luego entonces, podría darse el caso de que ciertas zonas de la fruta desarrollaran niveles de CO₂ mucho mayores y niveles de O₂ menores, con lo que el stress al que estarían sometidas estas células sería diferente con respecto a otras células y esto provocarían que empezaran a mostrar los síntomas provocados por los cambios en el metabolismo, debidos a las concentraciones de gases y traer como consecuencia la muerte de la célula. Este proceso podría ser autocatalítico debido a que la muerte celular redundaría en una pérdida de citoplasma hacia el espacio intercelular dificultando la difusión de gases hacia otras regiones de la fruta con lo que otras células se encontrarían en condiciones anaeróbicas y empezarían a su vez a mostrar los síntomas debidos al stress anaeróbico.

Ya expuesta la idea, a continuación se mostrarán algunos hechos que se han encontrado experimentalmente con el fin de ver como se explican en base a la hipótesis mostrada.

Se han encontrado gradientes entre la concentración de oxígeno inmediatamente bajo la piel y en el centro de la fruta para manzanas 'Braeburn' y 'Cox's Orange Pippin', peras 'Hosui' y 'Kosui' y Nectarinas 'Red Gold' y 'Sunglo'; siendo mayor el gradiente conforme disminuye la cantidad de volumen de espacio intercelular con velocidades de respiración parecidas (Rajapakse, et al., 1990). Además, la permeabilidad hacia el oxígeno de la cáscara de manzanas cv 'Super Golden Delicious' y 'Red Stark' aumenta conforme transcurre la maduración de las frutas (Andrich, et al., 1989) y en general se considera que el estado de maduración altera la resistencia a la difusión de gases en las frutas (Cameron y Reid, 1982), lo que puede explicar el hecho de que frutos que se encuentran maduros soportan mejor el stress debido a las AC con respecto a frutos que se encuentran en los primeros estadios de maduración (Kader, et al., 1989).

Por otra parte, se ha encontrado que para algunos productos conforme aumenta la temperatura, los desórdenes provocados por las AC tienden a ser mas acentuados o los beneficios debidos a las AC son mantenidos por menos tiempo. Así tenemos que los daños por bajo oxígeno en brócoli son mas acentuados conforme aumenta la temperatura (Leberman, et al., 1968); manzanas 'McIntosh' tienden a perder mas rápidamente la firmeza a temperaturas mas

altas (Workman, 1963); los rábanos mantenidos en 0.5% de O₂ pueden conservarse bien a 0° C, pero si la temperatura se aumenta a 5° C, tienden a sufrir daños debido a la anaerobiosis (Lipton, 1972); vaccínios cv 'Harrison', 'Jersey' y 'Reade', almacenados en atmósferas anaeróbicas, tendieron a mostrar un mayor contenido de etanol cuando se aumentó la temperatura (Saltveit y Ballinger, 1983); nectarinas almacenadas en 0.5% de O₂ mostraron daños mas severos a 15°C con respecto a 5°C (Smilanick y Fouse, 1989). De acuerdo a la hipótesis, esto puede explicarse en base al hecho de que un aumento en temperatura implica un aumento en respiración y, por ende, una mayor oportunidad para el desarrollo de acumulaciones de alto CO₂ y bajo O₂ en ciertas partes del vegetal que serían los causantes del daño al tejido (Kader, et al., 1989).

Ahora bien, una consecuencia de la explicación hipotética dada arriba, es que las primeras células en mostrar deterioro debido a alteraciones importantes en la composición de gases de el espacio intercelular deben ser las que se encuentran en la parte central y efectivamente en muchos trabajos se han encontrado con mas tendencia a dañarse, como es el caso de manzanas 'Newton Wonder' (Thomas, 1929; Thomas, 1931); manzanas 'McIntosh' (Dewey y Bourne, 1982; Lau, et al., 1986), manzanas 'Spartan' mantenidas en niveles de CO₂ de 2.5% (Lau, 1983), peras 'Bartlett' (Claypool, 1973; Blanpied, 1975); peras 'Anjou' almacenadas a 10, 15 y 20% de CO₂ que desarrollaron encafecimiento en la parte central (Browncore) en 90, 100 y 80% de las frutas respectivamente (Hansen,

1957); peras 'Bosc' almacenadas en concentraciones variables de O₂ y CO₂ desarrollaron encafecimiento del centro de la pulpa hasta en 97% de las frutas cuando se almacenaron a 3.1% de O₂ y 0.2% de CO₂ (Blanpied, 1975); papas de las variedades 'Norchip', 'Monona' y 'Kennebec' sometidas a atmósferas anaeróbicas que desarrollaron obscurecimientos en la parte central del tubérculo cuando fueron colocadas en aire de nuevo, posiblemente debido al aceleramiento del proceso por la elevación de oxígeno y temperatura que provocó aumentos en la velocidad de respiración (Sherman y Ewing, 1983).

Como puede observarse, es posible explicar algunos resultados que se han encontrado experimentalmente con el uso de atmósferas controladas, sin embargo, aún quedan algunos por explicar como es el hecho de que en algunos productos el desorden se manifiesta en la superficie de la fruta y no en la cáscara como es el caso de tomate (Parsons, et al., 1970), manzanas 'McIntosh' que se ha visto desarrollan encafecimiento en la parte de la pulpa cerca de la superficie y no la desarrollan en el centro (Dewey y Bourne, 1982); peras 'd'Anjou' que desarrollaron escaldaduras superficiales cuando se almacenaron a 2.5% de O₂ a partir de los ocho meses de almacenamiento (Mellenthin, et al., 1980); y el desarrollo de un desorden que se presenta en peras 'd'Anjou' conocido como negro pequeño ("black speck") que se produce con concentraciones de oxígeno de 1% (Lee, et al., 1990). Además, en algunas ocasiones, el aumento de temperatura puede impedir el desarrollo del desorden antes que aumentarlo.

La idea acerca de que las diferencias estructurales influyen el comportamiento de las frutas bajo los efectos de las AC que anteriormente se expuso, la comparten muchos investigadores, como: Burton, 1974; Kader y Morris, 1977; Isenberg, 1979; Smock, 1979 y Weichman, 1982.

Para concluir con esta discusión, quiero sugerir que las futuras investigaciones tendientes a tratar de elucidar los efectos que se han observado en frutas y vegetales en AC, se deben enfocar al desarrollo de ecuaciones de predicción que involucren variables independientes tales como el volumen de espacio intercelular de la fruta, la permeabilidad de la cáscara de la fruta a el O_2 y CO_2 , la velocidad de respiración de la fruta a las condiciones dadas de temperatura y grado de madurez, etc. Asimismo, a la par con este tipo de estudios, es necesario tratar de conocer como es que el metabolismo del vegetal responde a las condiciones generalmente anóxicas que implica el uso de las AC, condiciones que las ecuaciones pueden predecir con bastante exactitud. De aquí que tendremos conocimiento tanto de las concentraciones de O_2 y CO_2 que se desarrollarán en el interior de determinado vegetal, como de la forma como metabólicamente responderá a estas mismas condiciones. Estos estudios arrojarán mas luz acerca de las condiciones reales que provocan los daños en los vegetales, y permitirán predecir su aparición, lo que hará posible evitarlos.

CONCLUSIONES

El almacenamiento de mango (*Mangifera indica*) var. 'Keitt' en atmósferas controladas (AC) con concentraciones de oxígeno de 0.2-0.3% durante cinco días retarda la maduración de acuerdo a las mediciones de respiración, pérdida de firmeza en pulpa y pérdida de color verde en cáscara.

La tendencia mostrada por las frutas bajo AC a perder menos peso se debe al desarrollo de altas humedades relativas debido al equipo utilizado para la AC, mas que a un efecto directo de la misma.

La fruta de mango var 'Keitt' es muy tolerante a niveles insecticidas de oxígeno (0.2-0.3%) hasta por cinco días, de acuerdo a los resultados del análisis sensorial; por lo que el tratamiento utilizado en este trabajo puede ser aplicado en postcosecha para el control de la mosca de la fruta.

Las actividad de la enzima IDH disminuyó durante los primeros tres días de almacenamiento en AC, lo que indica una disminución en la velocidad con la que estuvo funcionando el ciclo de Krebs.

La disminución en actividad enzimática de MDH e IDH no se relaciona con la baja velocidad de respiración que tuvieron las frutas durante el almacenamiento en AC.

La actividad de la enzima Alfa-cetoglutarato Deshidrogenasa en las frutas bajo AC, aumentó en actividad hacia los dos últimos días de almacenamiento en AC, sin embargo, con su traslado a aire, su comportamiento indica que tendió a normalizarse.

La actividad de la enzima Succinato Deshidrogenasa no sufrió cambios ni durante el tratamiento en AC ni después del traslado de la fruta a aire.

Los anteriores hallazgos en cuanto a actividad enzimática, llevan hacia la conclusión de que el metabolismo del vegetal se normalizó con el retorno de la fruta a aire, con lo que no ocurrió ningún tipo de alteración en el proceso de maduración posterior; esta conclusión es reafirmada por los resultados en la evaluación sensorial, donde no se encontró el desarrollo de olores o sabores desagradables en la fruta.

BIBLIOGRAFIA

Abdul Mallib, M. y P.J. O'Brien. 1975. Compartmentation of Enzymes in the Rat Liver Mitochondrial Matrix. Archives of Biochemistry and Biophysics 167(1):193-202.

Adamicki, R. y A.K. Kepka. 1974. Storage of Onions in Controlled Atmospheres. Acta Horticultura 62:23-30.

Aharoni, Y., J.K. Stewart y D.G. Guadagni. 1981. Modified Atmospheres to Control Western Flower Thrips on Harvested Strawberries. Journal of Economic Entomology 74:338-340.

Akamine, E.K. y T. Arisumi. 1953. Control of Postharvest Storage Decay of Fruits of Papaya (Carica papaya L.) with Special Reference to the Effect of Hot Water. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 68:270-274.

Amla, B.L. y F.J. Francis. 1960. Alcohol Formation and Respiration Rates in Prepeeled Potatoes. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 75:537-544.

Anderson, R.E., R.E. Handerbung y H.C. Vaught. 1963. Controlled-Atmosphere Storage Studies with Cranberries. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 83:416-422.

Anderson, R.E. 1967. Experimental Storage of Eastern-Grown 'Delicious' Apples in Various Controlled Atmospheres. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 91:810-820.

Andrich, G., R. Fiorentini, A. Tuci y C. Galoppini. 1989. Skin Permeability to Oxygen in Apples Stored in Controlled Atmosphere. Journal of the American Society for Horticultural Science 114(5):770-775.

Annis, P.C. 1986. Towards Rational Controlled Atmosphere Dosage Schedules: A Review of Current Knowledge. In: Proceedings of the Fourth International Working Conference on Stored-Product Protection. (Eds: Donahaye, E. y S. Navarro). Maor- Wallach Press. Tel Aviv, Israel.

Anónimo. 1978. Postharvest Food Losses in Developing Countries. National Academy of Sciences. Board of Science and Technology for International Development. Washington, D.C.

- Anónimo.** 1983. Radiation Preservation of Foods. A Scientific Status Summary by the Institute of Food Technologists' Expert Panel on Food Safety and Nutrition. Food Technology 37(2):55-60.
- Anónimo.** 1984. Ethylene Dibromide Amendment of Notice of Intent to Cancel Registration of Pesticide Products Containing Etylene Dibromide. Federal Register 49(70):14182-14185.
- Anónimo.** 1986. Ethylene Dibromide Amendment to EDB Registration for Postharvest Fumigation of Exported Citrus Fruit. Federal Register 51(78):15373.
- Anónimo.** 1987. Public Concern with Chemical Residues in Foods: A Special Symposium. Office of Scientific Affairs. Food Technology 41(8):26-36.
- Anónimo.** 1990. Quality of Fruits and Vegetables. A Scientific Status Summary by the Institute of Food Technologists' Expert Panel on Food Safety and Nutrition. Food Technology 44(6):99-106.
- Armstrong, J.W.** 1990. High-Temperature Forced-Air Quarantine Treatments for Fresh Fruits Infested by Tephritid Fruit Flies. Acta Horticulture 269:499-451.
- Bailey, S.W. y H.J. Banks.** 1974. The Use of Controlled Atmospheres for the Storage of Grain. In: Proceedings of the First International Working Conference on Stored Product Entomology. (Ed: Jepson, W.H.). Savannah, Georgia, U.S.A.
- Bailey, S.W. y H.J. Banks.** 1980. A Review of Recent Studies of the Effects of Controlled Atmospheres on Stored Product Pests. In: Developments in Agricultural Engineering 1. Controlled Atmosphere Storage of Grains. (Ed: Shejbal, J.). Elsevier Science Publishing Company. Amsterdam, Holland.
- Baxter, L. y L. Waters.** 1990. Controlled Atmosphere Effects on Physical Changes and Ethylene Evolution in Harvested Okra. Journal of the American Society for Horticultural Science 25(1):92-95.
- Baxter, L. y L. Waters.** 1990. Chemical Changes in Okra Stored in Air and Controlled Atmosphere. Journal of the American Society for Horticultural Science 115(3):452-454.
- Bendall, D.S., S.L. Ranson y D.A. Walker.** 1960. Effects of Carbon Dioxide on the Oxidation of Succinate and Reduced Diphosphopyridine Nucleotide by Ricinus Mitochondria. Biochemical Journal 76(2):221-225.
- Berrang, M.E., R.E. Brackett y L.R. Beuchat.** 1990. Microbial, Color and Textural Qualities of Fresh Asparagus, Broccoli, and Cauliflower Stored Under Controlled Atmosphere. Journal of Food Protection 53(5):391-395.

- Blanpied, G.D. y E. Hansen. 1968. The Effect of Oxygen, Carbon Dioxide and Ethylene on the Ripening of Pears at Ambient Temperatures. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 93:813-816.
- Blanpied, G.D. 1975. Pithy Brown Core Occurrence in 'Bosc' Pears During Controlled Atmosphere Storage. Journal of the American Society for Horticultural Science 100(1):81-84.
- Blanpied, G.D. 1975. Core Breakdown of New York 'Bartlett' Pears. Journal of the American Society for Horticultural Science 100(2):198-200
- Biehl, M. y W.B. Buck. 1987. Chemical Contaminants: Their Metabolism and Their Residues. Journal of Food Protection 50(12):1058-1073.
- Bonner, W.D. 1950. The Succinic Oxidase System and its Relation to Phosphate and Bicarbonate. Nature 165(4202):757-758.
- Bradford, M.M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein Dye Binding. Anal. Biochem. 72:248.
- Bramlage, W.J., F.W. Southwick, F.M. Sawyer y P.E. Fergenson. 1966. Comparison of Controlled Atmosphere and Air-Stored 'McIntosh' Apples. After Various Lengths of Storage. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 89:40-45.
- Bretch, P., L. Morris, C. Cheyney y D. Janecke. 1973. Brown Stain Susceptibility of Selected Lettuce Cultivars Under Controlled Atmospheres and Temperatures. Journal of the American Society for Horticultural Science 98(3):261-264.
- Bretch, P.E. 1980. Use of Controlled Atmospheres to Retard Deterioration of Produce. Food Technology 34(3):45-50
- Bruhn, C.M., H.G. Schutz y R. Sommer. 1986. Attitude Change Toward Food Irradiation Among Conventional and Alternative Consumers. Food Technology 40(1):86.
- Bruhn, C.M. y J.W. Noell. 1987. Consumer In-Store Response to Irradiated Papayas. Food Technology 41(9):83-85.
- Buescher, R.W. 1979. Influence of Carbon Dioxide on Postharvest Ripening and Deterioration of Tomatoes. Journal of the American Society for Horticultural Science. 104(4):545-547.
- Burditt, A.K. 1982. Food Irradiation as a Quarantine Treatment of Fruits. Food Technology 36(11):51-62.

Burg, S.P. y E.A. Burg. 1965. Gas Exchange in Fruits. Physiologia Plantarum 18(3):870-884.

Burton, W.G. 1950. Studies on the Dormancy and Sprouting of Potatoes and Sprouting of Potatoes. I. The Oxygen Content of Potato Tuber. New Phytologist 49:121-134.

Burton, W.G. 1974. Some Biophysical Principles Underlying the Controlled Atmosphere Storage of Plant Material. Annals of Applied Biology 78:149-168.

Calderón, M. y S. Navarro. 1980. Synergistic Effect of CO₂ y O₂ Mixtures on Two Stored Grain Insect Pests. In: Developments in Agricultural Engineering 1. Controlled Atmosphere Storage of Grains. (Ed:Shejbal, J.). Elsevier Science Publishing Company. Amsterdam, Holland.

Cameron, A.C. y M.S. Reid. 1982. Diffusive Resistance: Importance and Measurement in Controlled Atmosphere Storage. Symposium Series No. 1. Controlled Atmospheres for Storage and Transport of Perishable Agricultural Commodities. (Ed: Richardson, D.G. and M. Meheriuk. Timber Press. Beaverton, Oregon, U.S.A.

Campos, J.P., E.M. Yahia y L. Vásquez-Moreno. 1990. Efecto del Tratamiento Hidrotérmico sobre la Maduración y Senescencia del Mango. Tecnología de Alimentos 25(2):14. (Resúmen).

Carrillo, L.A. y E.M. Yahia. 1990. Tolerancia del Aguacate var. 'Hass' a Niveles Insecticidas de O₂ y CO₂ y el Efecto sobre la Respiración Anaeróbica. Tecnología de Alimentos 25(2):13. (Resúmen).

Chavez, A.R. y J.O Thomas. 1984. Effects of a Brief CO₂ Exposure on Ethylene Production. Plant Physiology 76:88

Chavez, S. y A.A. Kader. 1990. Effects of CO₂ Concentrations on Ethylene Biosynthesis in 'Bartlett' Pear Fruit. HortScience 25(11):1353. (Resúmen).

Chen, P.M., M.W. Mellenthin, S.B. Kelly y T.J. Fackeu. 1981. Effects of Low Oxygen and Temperature on Quality Retention of 'Bing' Cherries During Prolonged Storage. Journal of the American for Horticultural Science 106(5):533-535.

Chen, P.M., R.A. Spotts y W.M. Mellenthin. 1981. Stem-end Decay and Quality of Low Oxygen Stored 'd'Anjou' Pears. Journal of the American Society for Horticultural Science. 106(6):695-698.

Chen, P.M. y W. M. Mellenthin. 1982. Storage Behavior of 'd'ANJOU' Pears in Low Oxygen and Air. Symposium Series No. 1. Controlled Atmospheres for Storage and Transport of Perishable Agricultural Commodities. (Ed: Richardson, D.G. and M. Meheriuk). Timber Press. Beaverton, Oregon, U.S.A.

Chock, A.K. 1990. Phytosanitary Requirements for Plant Products. Acta Horticulture 269:435-439.

Claypool, L.L. y F. W. Allen. 1948. Carbon Dioxide Production of Deciduous Fruits Held at Different Oxygen Levels During Transit Period. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 51:103.

Claypool, L.L. 1973. Further Studies on Controlled Atmosphere Storage of 'Bartlett' Pears. Journal of the American Society for Horticultural Science. 98(3):289-293.

Cochran, W.G. y G.M. Cox. 1957. Experimental Designs. John Wiley and Sons, Inc. New York, N.Y. U.S.A. pp 439-483.

Coucy, H.M. y C.F. Hayes. 1986. A Quarantine System for Papayas Using Fruit Selection and a Two-Stage Hot-Water Treatment. Journal of Economic Entomology 79:1307-1314.

Davis, R. y E.G. Jay. 1977. The Current Status of Controlled Atmospheres as a Method of Insect Control. In: Controlled Atmospheres for the Storage and Transport of Perishable Agricultural Commodities. Proceedings of the Second National Controlled Research Conference. (Ed: Dewey, D.H.). Department of Horticulture. Michigan State University. East Lansing, Michigan, U.S.A.

Delate, K.M. y J.K. Brecht. 1989. Quality of Tropical Sweet Potatoes Exposed to Controlled-Atmosphere Treatments for Postharvest Insect Control. Journal of the American Society for Horticultural Science 114(6):963-968.

Delate, K.M., J.K. Brecht y J.A. Coffelt. 1990. Controlled Atmosphere Treatments for Control of Sweetpotato Weevil (*Coleoptera:Curculionidae*) in Stored Tropical Sweet Potatoes. Journal of Economic Entomology. 83(2):461-465.

Dewey, D.H. y M.L. Bourne. 1982. Low Oxygen CA Storage of McIntosh Apples. In: Controlled Atmospheres for Storage and Transport of Perishable Agricultural Commodities. (Eds: Richardson, D.G. and M. Meheriuk). Timber Press. Beaverton, Oregon, U.S.A.

Dostal, H.C. 1970. The Biochemistry and Physiology of Ripening. Proceedings of the Symposium: The Nature, Mechanisms and Control of Ripening. HortScience 5(1):36-37

Duckworth, R.B. 1966. Fruits and Vegetables. Pergamon Press, Inc., New York, U.S.A. pp 306.

Eaks, I.L. 1967. Ripening and Astringency Removal in Persimmon Fruit. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 91:868-875.

Earle, N.W., L.A. Simmons y S.S. Nilakhe. 1979. Laboratory Studies of Sterility and Competitiveness of Boll Weevils Irradiated in an Atmosphere of Nitrogen, Carbon Dioxide, or Air. Journal of Economic Entomology 72(5):687-691.

El-Goorani, M.A. y N.F. Sommer. 1979. Suppression of Postharvest Plant Pathogenic Fungi by Carbon Monoxide. Phytopathology 69(8):834-838.

Fidler, J.C. 1968. The metabolism of Acetaldehyde by Plant Tissues. Journal of Experimental Botany 19(58):41-51.

Fons, J.F. 1990. Quarantine Barriers, Treatments as a Means to Facilitate Trade. Acta Horticulture 269:435-439.

Frenkel, C. y M.E. Patterson. 1973. Effect of Carbon Dioxide on Activity of Succinic Dehydrogenase in 'Bartlett' Pears During Cold Storage. HortScience 8(5):395-396.

Frenkel, C. y M.E. Patterson. 1974. Effect of Carbon Dioxide on Ultrastructure of 'Bartlett' Pears. HortScience 9(4):338-340.

Frenkel, C. y M.E. Patterson. 1977. Metabolic Effects of CO₂ in 'Bartlett' Pears. In: Controlled Atmospheres for the Storage and Transport of Perishable Agricultural Commodities. Proceedings of the Second National Controlled Atmosphere Research Conference. (Ed: Dewey, D.H.) Michigan State University., East Lansing, Hort. Rept. 28:260-265.

Gacula, M. y J. Singh. 1984. Statistical Methods in Food and Consumer Research. Academic Press, Inc. Orlando, Fl., U.S.A.

Gaffney, J.J., G.J. Hallman y J.L. Sharp. 1990. Vapor Heat Research Unit for Insect Quarantine Treatments. Journal of Economic Entomology 83(5):1965-1971.

Gaunce, A.P. , C.V.G. Morgan y M. Meheriuk. 1982. Control of Tree Fruit Insects with Modified Atmospheres. En: Controlled Atmospheres for Storage and Transport of Perishable Agricultural Commodities. (Eds: Richardson, D.G. and M. Meheriuk). Timber Press. Beaverton, Oregon, U.S.A.

Goodenough, P.W. y T.H. Thomas. 1981. Biochemical Changes in Tomatoes Stored in Modified Gas Atmospheres. I. Sugars and Acids. Annals of Applied Biology 98:517-524.

Goodwin, S. y T.M. Wellham. 1990. Gamma Irradiation for Disinfestation of Cut Flowers Infested by Twospotted Spider Mite (*Acarina:Tetranychidae*). Journal of Economic Entomology 83(4):1455-1458.

Gould, W.P. y J.L. Sharp. 1990. Cold-Storage Quarantine Treatment for Carambolas Infested with the Caribbean Fruit Fly (*Diptera:Tephritidae*). Journal of Economic Entomology 83(2):458-460.

Guelfat-Reich, S., R. Ben-Arie y N. Metal. 1975. Effects of CO₂ During and Following Storage on Removal of Astringency and Keeping Quality of 'Triumph' Persimmons. Journal of the American Society for Horticultural Science 100(2):95-98.

Hallman, G.J. y J.L. Sharp. 1990. Hot-Water Immersion Quarantine Treatment for Carambolas Infested with Caribbean Fruit Fly (*Diptera:Tephritidae*). Journal of Economic Entomology 83(4):1471-1474.

Hallman, G.J., J.J. Gaffney y J.L. Sharp. 1990. Vapor Heat Treatment for Grapefruit Infested with Caribbean Fruit Fly (*Diptera:Tephritidae*). Journal of Economic Entomology 83(4):1475-1478.

Hansen, E. 1957. Reactions of Anjou Pears to Carbon Dioxide and Oxygen Content of the Storage Atmosphere. Proceedings of the American Society for Horticultural Science. 69:110-115.

Hansen, E. 1966. Postharvest Physiology of Fruits. Annual Review of Plant Physiology 17:459-480.

Hanson, A.D., J.V. Jacobsen y J.A. Zwar. 1984. Regulated Expression of Three Alcohol Dehydrogenase Genes in Barley Aleurone Layers. Plant Physiology 75:573-581.

Harein, P.K. y A.F. Press. 1968. Mortality of Stored-Peanut Insects Exposed to Mixtures of Atmospheric Gases at Various Temperatures. Journal of Stored Products Research 4(1):77-82.

Hartsell, P.L., Y. Aharoni, J.K. Stewart y D.K. Young. 1979. Acetaldehyde Toxicity to the Green Peach Aphid on Harvested Head Lettuce in High Carbon Dioxide or Low Oxygen Atmospheres. Journal of Economic Entomology 72(6):904-905.

Hatton, T.T. 1986. Reducing Susceptibility of Horticultural Commodities to Chilling Injury During Cold Treatment. In: Proceedings of the Fourth International Working Conference on Stored-Product Protection. (Ed:Donahaye, E. and S. Navarro). Tel Aviv, Israel.

- Heerde, E. y F. Radler. 1978. Metabolism of the Anerobic Formation of Succinic Acid by *Saccharomyces cerevisiae*. Archives of Microbiology 117(3):269-276.
- Hillier, A.J. y G.R. Jago. 1978. The Metabolism of [¹⁴C]Bicarbonate by *Streptococcus lactis*: The Synthesis of Succinic Acid. Journal of Dairy Research 45(3):4
- Hochachaka, P.W. 1980. Anaerobic Metabolism: What can and What can not Change. In: Living Without Oxygen. Closed and Open System in Hypoxia Tolerance. (Ed: Hochachaka, P.W.). Harvard University Press. Mass., U.S.A.
- Hochachka, P.W. y T.P. Mommsen. 1983. Protons and Anaerobiosis. Science 219(4591):1391-1397.
- Hulme, A.C. 1956. Carbon Dioxide Injury and the Presence of Succinic Acid in Apples. Nature 178(4526):218-219.
- Isenberg, F.M.R. 1979. Controlled Atmosphere of Vegetables. En: Horticultural Reviews. Vol 1. (Ed: Janick, J.). Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, U.S.A. pp 337-394.
- Jay, E.G. y G.C. Pearman. 1973. Carbon Dioxide for Control of an Insect Infestation in Stored Corn (Maize). Journal of Stored Products Research 9(1):25-29.
- Jay, E. 1984. Recent Advances in the Use of Modified Atmospheres for the Control of Stored-Product Insects. In: Insect Management for Food Storage and Processing. (Ed: Baur, F.J.). American Association of Cereal Chemists. St. Paul, Minnesota, U.S.A.
- Jessup, A.J. 1990. Gamma Irradiation as a Quarantine Treatment for Sweet Cherries Against Queensland Fruit Fly. HortScience 25(4):456-458.
- Jones, R.M. 1938. Toxicity of Fumigant-CO₂ Mixtures to the Red Flour Beetle. Journal of Economic Entomology 31(2):298-308.
- Kader, A.A. 1980. Prevention of Ripening in Fruits by Use of Controlled Atmospheres. Food Techonology 34(3):51-54.
- Kader, A.A. 1986a. Biochemical and Physiological Basis for Effects of Controlled and Modified Atmospheres on Fruits and Vegetables. Food Technology 40(5):99-104.
- Kader, A.A. 1986b. Potential Applications of Ionizing Radiation in Postharvest Handling of Fresh Fruit and Vegetables. Food Technology 40(6):117-121.

Kader, A.A. y L.L. Morris. 1977. Relative Tolerance of Fruits and Vegetables to Elevated Carbon Dioxide and Reduced Oxygen Levels. In: Controlled Atmospheres for the Storage and Transport of Perishable Agricultural Commodities. Proceedings of the Second National Controlled Atmosphere Research Conference. (Ed: Dewey, D.H.) Michigan State University., East Lansing, Hort. Rept. 28:260-265.

Kader, A.A., D. Zagory y E.L. Kerbel. 1989. Modified Atmosphere Packaging of Fruits and Vegetables. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 28:1-30.

Kader, A.A. 1991. University of California at Davis. Davis, CA, U.S.A. Comunicación Personal.

Kasmire, R.F., A.A. Kader y J. Klaustermeyer. 1974. Influences of Aeration Rate and Atmospheric Composition During Simulated Transit on Visual Quality and Off-odors Production by Broccoli. HortScience 9:228-229.

Ke, D. y M.E. Saltveit. 1989. Regulation of Russet Spotting, Phenolic Metabolism, and IAA Oxidase by Low Oxygen in Iceberg Lettuce. Journal of the American Society for Horticultural Science 114(4):638-642.

Ke, D. y A.A. Kader. 1990. Tolerance of Valencia Oranges to Controlled Atmospheres as Determined by Physiological Responses and Quality Attributes. Journal of the American Society for Horticultural Science 115(5):779-783.

Ke, D., H. van Gorsel y A.A. Kader. 1990. Physiological and Quality Responses of 'Bartlett' Pears to Reduced O₂ and Enhanced CO₂ Levels and Storage Temperature. Journal of the American Society for Horticultural Science 115(3):435- 439.

Kennedy, R.A., T.C. Fox y J.N. Siedow. 1987. Activities of Isolated Mitochondrial Enzymes from Aerobically and Anaerobically Germinated Barnyard Grass (Echinochloa) Seedlings. Plant Physiology 85:474-480.

Kerbel, L., A.A. Kader y R.J. Romani. 1988. Effects of Elevated CO₂ Concentrations on Glycolysis in Intact 'Bartlett' Pear Fruit. Plant Physiology 86(4):1205-1209.

Kim, B.D. y C.B. Hall. 1976. Firmness of Tomato Fruit Subjected to Low Concentrations of Oxygen. HortScience 11(5):466.

Klag, N.G. 1985. Use of CA for Quarantine Control of Insects on Fresh Fruits and Vegetables. In: Controlled Atmosphere for Storage and Transport of Perishable Agricultural Commodities. Proceedings of the Fourth National Controlled Atmosphere Research Conference. (Ed: Blankenship, S.M.). Department of Horticultural Science. North Carolina State University. Raleigh, North Carolina, U.S.A.

Klaustermeyer, J.A., A.A. Kader y L.L. Morris. 1977. Effect of Controlled Atmospheres on Insect Control in Harvested Lettuce. In: Controlled Atmospheres for the Storage and Transport of Perishable Agricultural Commodities. Proceedings of the Second National Controlled Atmosphere Research Conference. (Ed: Dewey, D.H.). Department of Horticulture. Michigan State University. East Lansing, Michigan, U.S.A.

Knee, M. 1982. Fruit Softening III. Requirements of Oxygen and pH Effects. Journal of Experimental Botany 33(137):1263-1269.

Knee, M., S.G.S. Hatfield y D. Farman. 1990. Sources of Variation in Firmness and Ester Content of 'Cox' Apples Stored in 2% Oxygen. Annals of Applied Biology 116(3):617-623.

Kollas, D.A. 1964. Preliminary Investigation of the Influence of Controlled Atmosphere Storage on the Organic Acid of Apples. Nature 204(4960):758-759.

Kubo, Y., A. Inaba y R. Nakamura. 1990. Respiration and C_2H_4 Production in Various Harvested Crops Held in CO_2 -Enriched Atmospheres. Journal of the American Society for Horticultural Science 115(6):975-978.

Laidlaw, W.G. y C.F. Hayes. 1990. Calculation of Ethylene-Forming Enzyme Activity in Papayas Treated for Control of Oriental Fruit Flies (*Diptera: Tephritidae*). Journal of Economic Entomology 83(5):1944-1948.

Laszlo, A. y P. St. Lawrence. 1983. Parallel Induction and Synthesis of PDC and ADH in Anoxic Maize Roots. Mol Gen Genet 192:110-117.

Lau, O.L. y N.E. Looney. 1978. Factors Influencing CO_2 -induced Peel Injury of 'Golden Delicious' Apples. Journal of the American Society for Horticultural Science 103(6):836-838.

Lau, O.L. y N.E. Looney. 1982. Improvement of Fruits Firmness and Acidity in Controlled-Atmosphere-Stored 'Golden Delicious' Apples by a Rapid O_2 Reduction Procedure. Journal of the American Society for Horticultural Science 107(4):531-534.

Lau, O.L. 1983. Storage Responses of Four Apple Cultivars to a 'Rapid CA' Procedure in Commercial Controlled-Atmosphere Facilities. Journal of the American Society for Horticultural Science 108(4):530-533.

Lau, O.L. 1983. Effects of Storage Procedures and Low Oxygen and Carbon Dioxide Atmospheres on Storage Quality of 'Spartan' Apples. Journal of the American Society for Horticultural Science 108(6):953-957.

Lau, O.L., R. Yastremski y M. Meheriuk. 1987. Influence of Maturity, Storage Procedures, Temperature and Oxygen Concentration on Quality and Disorders of 'McIntosh' Apples. Journal of the American Society for Horticultural Science 112(1):93-99.

Lau, O.L. 1990. Tolerance of Three Apple Cultivars to Ultra-Low Levels of Oxygen. HortScience 25(11):1412-1414.

Lieberman, K.W., A.I. Nelson y N.P. Steinberg. 1968. Post- Harvest Changes of Broccoli Stored in Modified Atmospheres. 2. Acidity and its Influence on Texture and Chlorophyll Retention in the Stalks. Food Technology 22:146-149.

Lee, T.H., D.H. Graham, W.B. McGlasson y R.B.H. Wills. 1981. Postharvest: An Introduction to the Physiology and Handling of Fruit and Vegetables. Avi Publishing Co., Inc. Westport, Connecticut, U.S.A.

Lee, S.P., P.M. Chen, T.H.H. Chen, D.M. Varga y E.A. Mielke. 1990. Differences of Biochemical Components Between the Skin Tissues of Normal and Black-Speckled 'd'Anjou' Pears After Prolonged Low-Oxygen Storage. Journal of the American Society for Horticultural Science 115(5):784-788.

Lehninger, A.L. 1975. Biochemistry. Second Edition. Worth Publishers, Inc. New York, U.S.A. 1104 pp.

Lester, G.E. y D.A. Wolfenbarger. 1990. Comparisons of Cobalt-60 Gamma Irradiation Dose Rates on Grapefruit Flavedo Tissue and on Mexican Fruit Fly Mortality. Journal of Food Protection 53(4):329-331.

Li, P.H. y E. Hansen. 1964. Effects of Modified Atmospheres Storage on Organic Acid and Protein Metabolism of Pears. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 85:100-111.

Li, C. y A.A. Kader. 1989. Residual Effects of Controlled Atmosphere on Postharvest Physiology and Quality of Strawberries. Journal of the American Society for Horticultural Science 114(4):629-634.

Li, P.H. y E. Hansen. 1964. Effects of Modified Atmosphere Storage on Organic Acids and Protein Metabolism of Pears. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 85:110-111.

Lidster, P.D., K.B. McRae y K.A. Sanford. 1981. Responses of 'McIntosh' Apples to Low Oxygen Storage. Journal of the American Society for Horticultural Science. 106(2):159-162.

Lieberman, M. y R.E. Hardenburg. 1954. Effect of Modified Atmospheres on Respiration and Yellowing of Broccoli and 75 Degrees F. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 63:409.

Lipton, W.J. 1972. Market Quality of Radishes Stored in Low O₂-Atmospheres. Journal of the American Society for Horticultural Science 97(2):164-167.

Lipton, W.J. 1977. Toward an Explanation of Disorders of Vegetables Induced by High CO₂ or Low O₂. In: Controlled Atmosphere Storage and Transport of Perishable Agricultural Commodities. (Ed: Dewey, D.H.). Michigan State University. East Lansing, Michigan, U.S.A.

Lipton, W.J. 1980. Controlled Atmospheres for Fresh Vegetables and Fruits. Why and When. In: Postharvest Biology and Handling of Fruits and Vegetables. (Ed: Haard, N. and D.K. Salunkhe). Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, U.S.A.

Lipton, W.J., C.M. Harris y H.M. Couey. 1967. Culinary Quality of Cauliflower Stored in CO₂-Enriched Atmospheres. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 91:852-859

Lipton, W.J. y C.M. Harris. 1974. Controlled Atmosphere Effects on the Market Quality of Stored Broccoli (*Brassica oleracea* L. Italic Group). Journal of the American Society for Horticultural Science 99(3):200-205.

Lipton, W.J. y B.E. Mackey. 1987. Physiological and Quality Responses of Brussels Sprouts to Storage in Controlled Atmospheres. Journal of the American Society for Horticultural Science 112(3):491-496.

López, F. y J.W. Balock. 1970. Mortality of the Mexican Fruit Fly From Carbon Dioxide Generated in Buried Mangos and Oranges. Journal of Economic Entomology 63(6):1917-1919.

Lupiañez, J.A., A. Machado, I. Nuñez de Castro y F. Mayor. 1974. Succinic Acid Production by Yeasts Grown Under Different Hypoxic Conditions. Molecular & Cellular Biochemistry 3(2):113-116.

Lyons, J.M. y L. Rappaport. 1962. Effect of Controlled Atmospheres on Storage Quality of Brussels Sprouts. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 81:324-331.

McGaughey, W.H. y R.G. Akins. 1989. Application of Modified Atmospheres in Farm Grain Storage Bins. Journal of Stored Products Research 25(4):201-210.

Mapson, L.W. y W.G. Burton. 1962. The Terminal Oxidases of the Potato Tuber. Biochemical Journal 82(1):19-25.

Mark, S., E.E. Ewing y M.T. Tabacchi. 1978. Controlled Atmosphere Storage Improves Chip Color of the Potatoes Stored at Low Temperature. HortScience 13(3):55. (Resúmen).

Marzke, F.O., A.F. Press y G.C. Pearman. 1970. Mortality of the Rice Weevil, the Indian-Meal Moth, and *Trogoderma glabrum* Exposed to Mixtures of Atmospheric Gases at Various Temperatures. Journal of Economic Entomology 63(2):570-574

Matsuo, T. y S. Ito. 1977. On Mechanisms of Removing Astringency in Persimmon Fruits by Carbon Dioxide Treatment I. Some Properties of the Two Processes in the de-Astringency. Plant and Cell Physiology 18(1):17-25.

McGill, J.N., A.I. Nelson y M.P. Steinberg. 1966. Effects of Modified Storage Atmosphere on Ascorbic Acid and Other Quality Characteristics of Spinach. Journal of Food Science 31:510-514.

Medina, F., E.M. Yahia, L. Vázquez y A.M. Calderón. 1990. Responses of 'Keitt' Mango to Short Term Insecticidal O₂ and CO₂ Atmospheres. HortScience 25(9):1096 (Resúmen).

Mellenthin, W.M., P.M. Chen y S.B. Kelly. 1980. Low Oxygen Effects on Dessert Quality, Scald Prevention, and Nitrogen Metabolism of 'd'Anjou' Pear Fruit During Long-Term Storage. Journal of the American Society for Horticultural Science 105(4):522-527

Mencarelli, R., W.J. Lipton y S.J. Peterson. 1983. Responses of 'Zucchini' Squash to Storage in Low-O₂ Atmospheres at Chilling and Nonchilling Temperatures. Journal of the American Society for Horticultural Science 108(6):884-890.

Menegus, R., L. Cattaruzza, A. Chersi, A. Selva y G. Fronza. 1988. Production and Organ Distribution of Succinate in Rice Seedlings During Anoxia. Physiologia Plantarum 74(3):444-449.

Menegus, F., L. Cattaruzza, A. Chersi y G. Fronza. 1989. Differences in the Anaerobic Lactate-Succinate Production and in the Changes of Cell Sap pH for Plants with High and Low Resistance to Anoxia. Plant Physiology 90(1):29-32.

Miller, G.W. y H.J. Evans. 1956. Inhibition of Plant Cytochrome Oxidase by Bicarbonate. Nature 178(4540):974-976.

Miller, G.W. y W.H. Hsu. 1965. Effects of Carbon Dioxide- Bicarbonate Mixtures on Oxidative Phosphorylation by Cauliflower Mitochondria. Biochemistry Journal 97:615-619.

Monning, A. 1983. Studies on the Reaction of Krebs Cycle Enzymes from Apple Tissue (cv. 'Cox Orange') to Increased Levels for CO₂. Acta Horticultura 138:113-119.

Morris, L.L. y A.A. Kader. 1977. Physiological Disorders of Certain Vegetables in Relation to Modified Atmospheres. In: Proceedings of the Second National Controlled Atmosphere Research Conference (Ed: Dewey, D.H.). Michigan State University. East Lansing, Michigan, U.S.A.

Murata, T. y T. Minamide. 1970. Studies on Organic Acid Metabolism and Ethylene Production During Controlled Atmosphere Storage of Apples (*Mallus pumilla* cv. 'Rolls'). Plant and Cell Physiology 11(6):857-863.

Murr, D.P. y L.L. Morris. 1974. Influence of O₂ and CO₂ on o-diphenol Oxidase Activity in Mushrooms. Journal of the American Society for Horticultural Science 99(2):155-158.

Nanos, G.D., R.J. Romani y A.A. Kader. 1990. Metabolic Changes Associated with Oxygen Stress in Pear Fruit. HortScience 25(11):1355 (Resumen).

Navarro, S. 1978. The Effects of Low Oxygen Tensions on Three Stored-Product Insect Pests. Phytoparasitica 6(2):51-58.

Navarro, S. y M. Calderon. 1980. Integrated Approach to the Use of Controlled Atmospheres for Insect Control in Grain Storage. In: Developments in Agricultural Engineering 1. Controlled Atmosphere Storage of Grains. (Ed: Shejbal, J.). Elsevier Science Publishing Company. Amsterdam, Holland.

Navarro, S., M.A. Camara, A. Barba y S. Navarro. 1988. Residuos de Insecticidas Organofosforados en Productos Agrícolas de la Región de Murcia Destinados al Mercado Exterior. Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos 28(2):211-220.

Neal, G.E. y A.C. Hulme. 1958. The Organic Acid Metabolism of 'Bramley's Seedlings' Apple Peel. Journal of Experimental Botany 9(25):142-157.

Olmstead, G.W. 1984. Insecticides and Occupational Health in the Food Industry. En: Insect Management for Food Storage and Processing. (Ed: Baur, F.J.). American Association of Cereal Chemist St. Paul, Minnesota, U.S.A.

O'Mahony, M. 1986. Sensory Evaluation of Food. Statistical Methods and Procedures. Marcel Decker, Inc. pp:135-152.

Parsons, C.S., R.E. Anderson y R.W. Penney. 1970. Storage of Mature-Green Tomatoes in Controlled Atmospheres. Journal of American Society for Horticultural Science 95(6):791-794.

Petersen, B. y C. Chaisson. 1988. Pesticides and Residues in Food. Food Technology 42(7):59-64.

Rahman, R., C. Rigney y E. Busch-Petersen. 1990. Irradiation as a Quarantine Treatment Against *Ceratitis capitata* (Diptera:Tephritidae): Anatomical and Cytogenetic Changes in Mature Larvae After Gamma Irradiation. Journal of Economic Entomology 83(4):1449-1454.

Rajapakse, N.C., N.H. Banks, E.W. Hewett y D.J. Cleland. 1990. Development of Oxygen Concentration Gradients in Flesh Tissues of Bulky Plant Organs. Journal of American Society for Horticultural Science 115(5):793-797.

Ranson, S.L. 1953. Zymasis and Acid Metabolism in Higher Plants. Nature 172(4371):252-253.

Ranson, S.L., D.A. Walker y I.D. Clarke. 1957. The Inhibition of Succinic Oxidase by High CO₂ Concentrations. Biochemical Journal 66(4):57p.

Reichmuth, C. 1986. Low Oxygen Content to Control Stored Product Insects. In: Proceedings of the Fourth International Working Conference on Stored-Product Protection. (Eds: Donahaye, E. and S. Navarro). Maor-Wallach Press. Tel Aviv, Israel.

Reyes, A.A. y R.B. Smith. 1986. Controlled Atmosphere Effects on the Pathogenicity of Fungi on Celery and on the Growth of *Botrytis cinerea*. HortScience 21(5):1167-1169.

Roberts, J.K.M., F.H. Andrade y I.C. Anderson. 1985. Further Evidence that Cytoplasmic Acidosis Is a Determinant of Flooding Intolerance in Plants. Plant Physiology 77(2):492-494.

Roberts, J.K.M., K. Chang, C. Webster, J. Callis y V. Walbot. 1989. Dependence of Ethanolic Fermentation, Cytoplasmic pH Regulation, and Viability on the Activity of Alcohol Dehydrogenase in Hypoxic Maize Root Tips. Plant Physiology 89:1275-1278

Ryall, A.L. y W.T. Pentzer. 1982. Handling, Transportation & Storage of Fruits and Vegetables. Vol 2. Second Edition. Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, U.S.A.

Saltveit, M.E. y W.E. Ballinger. 1983. Effects of Anaerobic Nitrogen and Carbon Dioxide Atmospheres on Ethanol Production and Postharvest Quality of Blueberries. Journal of the American Society for Horticultural Science. 108(3):459-462.

Salunkhe, D.K., L.H. Pollard y R.K. Gerber. 1959. Effects of Gamma Radiation Dose, Rate, and Temperature on the Taste Preference and Storage Life of Certain Fruits, Vegetables, and Their Products. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 74:414-422.

Salunkhe, D.K., R.K. Gerber y L.H. Pollard. 1959. Physiological and Chemical Effects of Gamma Radiation on Certain Fruits, Vegetables, and their Products. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 74:423-429.

Salunkhe, D.K. y M.T. Wu. 1973. Effects of Low Oxygen Atmosphere Storage on Ripening and Associated Biochemical Changes of Tomato Fruits. Journal of American Society for Horticultural Science 98(1):12-14.

Salunkhe, D.K. y B.B. Desai. 1984. Postharvest Biotechnology of Fruits. VI. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, U.S.A. pp 1-7.

Sanadi, D.R. 1969. Alfa-Ketoglutarate Dehydrogenase from Pig Heart. In: Methods in Enzymology. Vol XIII. Citric Acid Cycle. (Ed:Lowenstein, J.M.). Academic Press, Inc. New York, N.Y., U.S.A.

Sharp, J.L., M.T. Ouye, W. Hart, S. Ingle, G. Hallman, W. Gould y V. Chew. 1989. Immersion of Florida Mangos in Hot Water as a Quarantine Treatment for Caribbean Fruit Fly (*Diptera:Tephritidae*). Journal of Economic Entomology 82(1):186-188.

Sharp, J.L., M.T. Ouye, S.J. Ingle, W.G. Hart, W.H. Enkerlin, H. Celedonio, J. Toledo, L. Stevens, E. Quintero, J. Reyes y A. Schwarz. 1989. Hot Water Quarantine Treatment for Mangoes from the State of Chiapas, Mexico, Infested with Mediterranean Fruit Fly and *Anastrepha serpentina* (Wiedeman) (*Diptera:Tephritidae*). Journal of Economic Entomology 82(6):1663-1666.

Sharp, J.L., M.T. Ouye, S.J. Ingle y W.G. Hart. 1989. Hot-Water Quarantine Treatment for Mangoes from Mexico Infested with Mexican Fruit Fly and West Indian Fruit Fly (*Diptera:Tephritidae*). Journal of Economic Entomology 82(6):1657-1662.

Sharp, J.L. 1990. Immersion in Heated Water as a Quarantine Treatment for California Stone Fruits Infested with the Caribbean Fruit Fly (*Diptera:Tephritidae*). Journal of Economic Entomology 83(4):1468-1470

Sharp, J.L. y H. Picho-Martínez. 1990. Hot-Water Quarantine Treatment to Control Fruit Flies in Mangoes Imported into the United States from Peru. Journal of Economic Entomology 83(5):1940-1943.

Sharples, R.O. 1982. Effects of Ultra-Low Oxygen Conditions on the Storage Quality of English Cox's Orange Pippin Apples. En: Controlled Atmospheres for Storage and Transport of Perishable Agricultural Commodities. (Eds: Richardson, D.G. and M. Meheriuk). Timber Press. Beaverton, Oregon, U.S.A.

Sherman, M. y E.E. Ewing. 1983. Effects of Temperature and Low Oxygen Atmospheres on Respiration, Chip Color, Sugars and Malate of Stored Potatoes. Journal of the American Society for Horticultural Science 108(1):129-133.

Shewfelt, R.L. 1986. Postharvest Treatment for Extending the Shelf Life of Fruits and Vegetables. Food Technology 40(5):70-80.

Shipway, M. y W.J. Bramlage. 1973. Effects of Carbon Dioxide on Activity of Apple Mitochondria. Plant Physiology 1(6):1095-1098.

Singer, T.P., G. Oestreicher, P. Hogue, J. Contreiras y I. Brandao. 1973. Regulation of Succinate Dehydrogenase in Higher Plants. I. Some General Characteristics of the Membrane-Bound Enzyme. Plant Physiology 53:616-621.

Singh, B., N.A. Littlefield y D.K. Salunkhe. 1970. Effects of Controlled Atmosphere Storage on Amino Acids, Organic Acids, Sugars and Rate of Respiration of 'Lambert' Sweet Cherry Fruit. Journal of the American Society for Horticultural Science. 95:458-464.

Singh, B., D.J. Wang y D.K. Salunkhe. 1972. Controlled Atmosphere Storage of Lettuce. 2. Effects on Biochemical Composition of the Leaves. Journal of Food Science 37(1):52-55.

Siripanich, J. y A.A. Kader. 1986. Changes in Cytoplasmic and Vacuolar pH in Harvested Lettuce Tissue as Influenced by CO₂. Journal of the American Society for Horticultural Science 111(1):73-77.

Smilanick, J.L. y D.C. Fouse. 1989. Quality of Nectarines Stored in Insecticidal Low-O₂ Atmospheres at 5 and 15 C. Journal of the American Society for Horticultural Science 114(3):431-436.

Smock, R.M. 1979. Controlled Atmosphere Storage of Fruits. En: Horticultural Reviews. (Ed: Janick, J.). Vol 1. Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, U.S.A.

Soderstrom, E.L. 1977. Research on the Use of a Low Oxygen Controlled Atmosphere for Insect Control in Dried Fruits and Tree Nuts. In: Controlled Atmospheres for the Storage and Transport of Perishable Agricultural Commodities. Proceedings of the Second National Controlled Atmosphere Research Conference. (Ed: Dewey, D.H.). Department of Horticulture. Michigan State University. East Lansing, Michigan, U.S.A.

Soderstrom, E.L. y D.G. Brandl. 1984. Low-Oxygen Atmosphere for Postharvest Insect Control in Bulk-Stored Raisins. Journal of Economic Entomology 77(2):440-445.

Soderstrom, E.L., P.D. Gardner, J.L. Baritelle, K.N. Nolan de L. y D.G. Brandl. 1984. Economic Cost Evaluation of a Generated Low-Oxygen Atmosphere as an Alternative Fumigant in the Bulk Storage of Raisins. Journal of Economic Entomology 77:457-461.

Soderstrom, E.L. y D.G. Brandl. 1985. Controlled Atmospheres to Reduce Post Harvest Insect Damage to Horticultural Crops. In: Controlled Atmosphere for Storage and Transport of Perishable Agricultural Commodities. Proceedings of the Fourth National Controlled Atmosphere Research Conference. (Ed: Blankeship, S.M.). Department of Horticultural Science. North Carolina State University. Raleigh, North Carolina, U.S.A.

Solomon, H.M., D.A. Kautter, T. Lilly y E.J. Rhodehamel. 1990. Ougrowth of *Clostridium botulinum* in Shredded Cabbage at Room Temperature Under a Modified Atmosphere. Journal of Food Protection 53(10):831-833.

Solomos, T. 1982. Effects of Low Oxygen Concentration on Fruit Respiration: Nature of Respiratory Disimintion. In: Controlled Atmospheres for Storage and Transport of Perishable Agricultural Commodities. (Eds: Richardson, D.G. and M. Meheriuk). Timber Press. Beaverton, Oregon, U.S.A.

Spalding, D.H. y W.F. Reeder. 1975. Low-Oxygen High-Carbon Dioxide Controlled Atmosphere Storage for Control of Anthracnose and Chilling Injury of Avocados. Phytopathology 65(4):458-460.

Spurr, A.R. 1970. Morphological Changes in Ripening Fruit. HortScience 5(1):33-35

Storey, C.L. 1980. Mortality of Various Stored Product Insects in Low Oxygen Atmospheres Produced by an Exothermic Inert Atmosphere Generator. In: Developments in Agricultural Engineering 1. Controlled Atmosphere Storage of Grains. (Ed: Shejbal, J.). Elsevier Science Publishing Company. Amsterdam, Holland.

Tabacchi, M.H., J.R. Hicks y P.A. Blau. 1978. Storing Celery in Low Oxygen Atmospheres. HortScience 13(3):55 (Resúmen).

Thayer, D.W. y J.W. Harlan. 1983. Status of the USDA Food Irradiation Programs. Food Technology 37(2):46-47.



C. I. A. D. A. G.
COMISIÓN NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A. C.
INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN

Thomas, M. 1929. The Production of Ethyl Alcohol and Acetaldehyde by Apples in Relation to the Injuries Occurring in Storage. Part I. Injuries to Apples Occurring in the Absence of Oxygen and in Certain Mixtures of Carbon Dioxide and Oxygen. Annals of Applied Biology 16(3):444-457.

Thomas, M. 1931. The Production of Ethyl Alcohol and Acetaldehyde by Fruits in Relation to the Injuries Occurring in Storage. Part II. Injuries to Apples and Pears Occurring in the Presence of Oxygen and in the Absence of Accumulations of Carbon Dioxide in the Storage Atmosphere. Annals of Applied Biology 18(1):60-75.

Tihanyi, K., A. Fontanell y J.P. Thirion. 1989. Gene Regulation During Anaerobiosis in Soya Roots. Biochemical Genetics 27(11):719-730.

Tompa, P., J. Batke, J. Ovadi, G. R. Welch y P.A. Srere. 1987. Quantitation of the Interaction Between Citrate Synthase and Malate Dehydrogenase. Journal of Biological Chemistry 262(13):6089-6092.

U.S. Department of Agriculture Animal y Plant Health Inspection Service. 1985. Plant Protection and Quarantine Treatment Manual. T101 (a and c), T107 and T108 (a and b). U.S.D.A. Washington, D.C.

Vanlerberghe, G.C., A.K. Horsey, H.G. Weger y D.H. Turpin. 1989. Anaerobic Carbon Metabolism by the Tricarboxylic Acid Cycle. Evidence for Partial Oxidative and Reductive Pathways During Dark Ammonium Assimilation. Plant Physiology 91:1551-1557.

Vantoal, T.T., N.R. Fausey y M.B. McDonald. 1985. Alcohol Dehydrogenase and Pyruvate Decarboxylase Activities in Flood-Tolerant and Susceptible Corn Seeds During Flooding. Agronomic Journal 77:753-757.

Wang, C.Y. 1983. Postharvest Responses of Chinese Cabbage to High CO₂ Treatment or Low O₂ Storage. Journal of the American Society for Horticultural Science 108(1):125-129.

Wager, H.G. 1974. The Effect of Subjecting Peas to Air Enriched with Carbon Dioxide. II. Respiration and the Metabolism of the Major Acids. Journal of Experimental Botany 25(85):338-351.

Wankier, B.N., D.K. Salunkhe y W.F. Campbell. 1970. Effects of Controlled Atmosphere Storage on Biochemical Changes in Apricot and Peach Fruit. Journal of American Society for Horticultural Science 95(5):604-609.

Weichmann, J. 1977. Physiological Response of Root Crops to Controlled Atmosphere. In: Controlled Atmosphere for the Storage and Transport of Perishable Agricultural Commodities. Proceedings of the Second National Controlled Atmosphere Research Conference. (Ed: Dewey, D.H.). Department of Horticulture. Michigan State University. East Lansing, Michigan, U.S.A.

Wells, J.M. y D.H. Spalding. 1975. Stimulation of *Geotrichum candidum* by Low Oxygen and High Carbon Dioxide Atmospheres. Phytopathology 65(11):1299-1302.

White, A., P. Handler, E.L. Smith, R.L. Hill y I.R. Lehman. 1983. Principios de Bioquímica. Editorial McGraw-Hill, Inc. pp 338-353.

Whitney, W.K. (1974). A General Survey of Physical Means for Control of Storage Pests. In: Proceedings of the First International Working Conference on Stored Product Entomology. (Ed: Jepson, W.H.). Savannah, Georgia, U.S.A.

WHO. 1981. Wholesomeness of Irradiated Food. Report of a Joint FAO/IAEA/WHO Expert Committee. Geneva, 27 October-3 November, 1980. World Health Organization. Technical Report Series, No. 659. Geneva, Switzerland.

Wills, R.B.H., T.H. Lee, D. Graham, W.B. McGlasson y E.G. Hall. 1981. Postharvest: An Introduction to the Physiology and Handling of Fruit and Vegetables. Avi Publishing Company, Inc. Westport, Conn., U.S.A.

Williams, A.A. y S.P. Langron. 1983. Influence of Different Controlled Atmospheres and Post-Storage Temperatures on the Acceptability of Cox's Orange Pippin and Suntan Apples. Journal of Food Science and Agriculture 34(12):1375-1382.

Williams, W.M. y M.E. Patterson. 1964. Nonvolatile Organic Acids and Core Breakdown of Bartlett Pears. Journal of Agriculture and Food Chemistry 12-80-83.

Wiskich, J.T. 1980. Control of the Krebs Cycle. En: P.K. Stumpf and E. E. Conn (Eds.). The Biochemistry of Plants. Vol. 2. pp 243-277. Academic Press, Inc., U.S.A.

Wong, S.S., N.F. Haard y G.R. Dimarco. 1971. Chlorophyll Degradation During Controlled Atmosphere Storage of Asparagus. Journal of Food Science 36(4):657-661.

Workman, M. 1963. Controlled Atmosphere Studies on Turley Apples. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 83:126-134.

Workman, M. y J. Twomey. 1967. The Influence of Oxygen Concentrations During Storage on Seed Potato Respiratory Metabolism and on Field Performance. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 90:268-274.

Yahia, E.M., K.E. Nelson y A.A. Kader. 1983. Postharvest Quality and Storage Life of Grapes as Influenced by CO Added to Air or Controlled Atmosphere. Journal of the American Society for Horticultural Science 108(6):1067-1071.

Yahia, E.M., O. Hernández y M. Rivera. 1990a. Las Respuestas de Papaya (*Papaya carica* L.) Almacenada en Atmósferas Modificadas con Niveles Insecticidas de Oxígeno. Tecnología de Alimentos 25(2):16. (Resúmen).

Yahia, E.M., F.W. Liu y T.E. Acree. 1990b. Changes of Some Odor-Active Volatiles in Controlled Atmosphere-Stored Apples. Journal of Food Quality 13:185-202

Yahia, E.M., D. Ke y A.A. Kader. 1991a. Responses of 'Bartlett' Pears to Insecticidal O₂ and CO₂ Atmospheres. HortScience 26(6):126. (Resúmen).

Yahia, E.M. y A.A. Kader. 1991b. Physiological and Biochemical Responses of Avocado Fruits to O₂ and CO₂ Stress. Plant Physiology 96(Suplem.):36

Yahia, E.M., F.W. Liu y T.E. Acree. 1991c. Changes of Some odor-active volatiles in Low Ethylene Controlled Atmosphere Stored Apples. Lebensmittel-Wissenschaft u Technologie. (Food Science and Technology) 24(2):145-151.

Yang, S.F. 1985. Biosynthesis and Action of Ethylene. HortScience 20:41.

Young, R.E., R.J. Romani y J.B. Biale. 1962. Carbon Dioxide Effects on Fruit Respiration. II. Response of Avocados, Bananas and Lemons. Plant Physiology 37(3):416-422.

Zagory, D. y A.A. Kader. 1989. Quality Maintenance in Fresh Fruits and Vegetables by Controlled Atmospheres. In: ACS Symposium Series No. 405. Quality Factors of Fruits and Vegetables. Chemistry and Technology. (Ed: Jen, J.J.). American Chemical Society. Washington, D.C., U.S.A.

- Workman, M. y J. Twomey. 1967. The Influence of Oxygen Concentrations During Storage on Seed Potato Respiratory Metabolism and on Field Performance. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 90:268-274.
- Yahia, E.M., K.E. Nelson y A.A. Kader. 1983. Postharvest Quality and Storage Life of Grapes as Influenced by CO Added to Air or Controlled Atmosphere. Journal of the American Society for Horticultural Science 108(6):1067-1071.
- Yahia, E.M., O. Hernández y M. Rivera. 1990a. Las Respuestas de Papaya (*Papaya carica* L.) Almacenada en Atmósferas Modificadas con Niveles Insecticidas de Oxígeno. Tecnología de Alimentos 25(2):16. (Resúmen).
- Yahia, E.M., F.W. Liu y T.E. Acree. 1990b. Changes of Some Odor-Active Volatiles in Controlled Atmosphere-Stored Apples. Journal of Food Quality 13:185-202
- Yahia, E.M., D. Ke y A.A. Kader. 1991a. Responses of 'Bartlett' Pears to Insecticidal O₂ and CO₂ Atmospheres. HortScience 26(6):126. (Resúmen).
- Yahia, E.M. y A.A. Kader. 1991b. Physiological and Biochemical Responses of Avocado Fruits to O₂ and CO₂ Stress. Plant Physiology 96(Suplem.):36
- Yahia, E.M., F.W. Liu y T.E. Acree. 1991c. Changes of Some odor-active volatiles in Low Ethylene Controlled Atmosphere Stored Apples. Lebensmittel-Wissenschaft u Technologie. (Food Science and Technology) 24(2):145-151.
- Yang, S.F. 1985. Biosynthesis and Action of Ethylene. HortScience 20:41.
- Young, R.E., R.J. Romani y J.B. Biale. 1962. Carbon Dioxide Effects on Fruit Respiration. II. Response of Avocados, Bananas and Lemons. Plant Physiology 37(3):416-422.
- Zagory, D. y A.A. Kader. 1989. Quality Maintenance in Fresh Fruits and Vegetables by Controlled Atmospheres. In: ACS Symposium Series No. 405. Quality Factors of Fruits and Vegetables. Chemistry and Technology. (Ed: Jen, J.J.). American Chemical Society. Washington, D.C., U.S.A.

Workman, M. y J. Twomey. 1967. The Influence of Oxygen Concentrations During Storage on Seed Potato Respiratory Metabolism and on Field Performance. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 90:268-274.

Yahia, E.M., K.E. Nelson y A.A. Kader. 1983. Postharvest Quality and Storage Life of Grapes as Influenced by CO Added to Air or Controlled Atmosphere. Journal of the American Society for Horticultural Science 108(6):1067-1071.

Yahia, E.M., O. Hernández y M. Rivera. 1990a. Las Respuestas de Papaya (*Papaya carica* L.) Almacenada en Atmósferas Modificadas con Niveles Insecticidas de Oxígeno. Tecnología de Alimentos 25(2):16. (Resúmen).

Yahia, E.M., F.W. Liu y T.E. Acree. 1990b. Changes of Some Odor-Active Volatiles in Controlled Atmosphere-Stored Apples. Journal of Food Quality 13:185-202

Yahia, E.M., D. Ke y A.A. Kader. 1991a. Responses of 'Bartlett' Pears to Insecticidal O₂ and CO₂ Atmospheres. HortScience 26(6):126. (Resúmen)

Yahia, E.M. y A.A. Kader. 1991b. Physiological and Biochemical Responses of Avocado Fruits to O₂ and CO₂ Stress. Plant Physiology 96(Suplem.):36

Yahia, E.M., F.W. Liu y T.E. Acree. 1991c. Changes of Some odor-active volatiles in Low Ethylene Controlled Atmosphere Stored Apples. Lebensmittel-Wissenschaft u Technologie. (Food Science and Technology) 24(2):145-151.

Yang, S.F. 1985. Biosynthesis and Action of Ethylene. HortScience 20:41.

Young, R.E., R.J. Romani y J.B. Biale. 1962. Carbon Dioxide Effects on Fruit Respiration. II. Response of Avocados, Bananas and Lemons. Plant Physiology 37(3):416-422.

Zagory, D. y A.A. Kader. 1989. Quality Maintenance in Fresh Fruits and Vegetables by Controlled Atmospheres. In: ACS Symposium Series No. 405. Quality Factors of Fruits and Vegetables. Chemistry and Technology. (Ed: Jen, J.J.). American Chemical Society, Washington, D.C., U.S.A.

Workman, M. y J. Twomey. 1967. The Influence of Oxygen Concentrations During Storage on Seed Potato Respiratory Metabolism and on Field Performance. Proceedings of the American Society for Horticultural Science, 90:268-274.

Yahia, E.M., K.E. Nelson y A.A. Kader. 1983. Postharvest Quality and Storage Life of Grapes as Influenced by CO Added to Air or Controlled Atmosphere. Journal of the American Society for Horticultural Science 108(6):1067-1071.

Yahia, E.M., O. Hernández y M. Rivera. 1990a. Las Respuestas de Papaya (*Papaya carica* L.) Almacenada en Atmósferas Modificadas con Niveles Insecticidas de Oxígeno. Tecnología de Alimentos 25(2):16. (Resúmen).

Yahia, E.M., F.W. Liu y T.E. Acree. 1990b. Changes of Some Odor-Active Volatiles in Controlled Atmosphere-Stored Apples. Journal of Food Quality 13:185-202

Yahia, E.M., D. Ke y A.A. Kader. 1991a. Responses of 'Bartlett' Pears to Insecticidal O₂ and CO₂ Atmospheres. HortScience 26(6):126. (Resúmen)

Yahia, E.M. y A.A. Kader. 1991b. Physiological and Biochemical Responses of Avocado Fruits to O₂ and CO₂ Stress. Plant Physiology 96(Suplem.):36

Yahia, E.M., F.W. Liu y T.E. Acree. 1991c. Changes of Some odor-active volatiles in Low Ethylene Controlled Atmosphere Stored Apples. Lebensmittel-Wissenschaft u Technologie. (Food Science and Technology) 24(2):145-151.

Yang, S.F. 1985. Biosynthesis and Action of Ethylene. HortScience 20:41.

Young, R.E., R.J. Romani y J.B. Biale. 1962. Carbon Dioxide Effects on Fruit Respiration. II. Response of Avocados, Bananas and Lemons. Plant Physiology 37(3):416-422.

Zagory, D. y A.A. Kader. 1989. Quality Maintenance in Fresh Fruits and Vegetables by Controlled Atmospheres. In: ACS Symposium Series No. 405. Quality Factors of Fruits and Vegetables. Chemistry and Technology. (Ed: Jen, J.J.). American Chemical Society. Washington, D.C., U.S.A.

Workman, M. y J. Twomey. 1967. The Influence of Oxygen Concentrations During Storage on Seed Potato Respiratory Metabolism and on Field Performance. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 90:268-274.

Yahia, E.M., K.E. Nelson y A.A. Kader. 1983. Postharvest Quality and Storage Life of Grapes as Influenced by CO Added to Air or Controlled Atmosphere. Journal of the American Society for Horticultural Science 108(6):1067-1071.

Yahia, E.M., O. Hernández y M. Rivera. 1990a. Las Respuestas de Papaya (*Papaya carica* L.) Almacenada en Atmósferas Modificadas con Niveles Insecticidas de Oxígeno. Tecnología de Alimentos 25(2):16. (Resumen).

Yahia, E.M., F.W. Liu y T.E. Acree. 1990b. Changes of Some Odor-Active Volatiles in Controlled Atmosphere-Stored Apples. Journal of Food Quality 13:185-202

Yahia, E.M., D. Ke y A.A. Kader. 1991a. Responses of 'Bartlett' Pears to Insecticidal O₂ and CO₂ Atmospheres. HortScience 26(6):126. (Resumen)

Yahia, E.M. y A.A. Kader. 1991b. Physiological and Biochemical Responses of Avocado Fruits to O₂ and CO₂ Stress. Plant Physiology 96(Suplem.):36

Yahia, E.M., F.W. Liu y T.E. Acree. 1991c. Changes of Some odor-active volatiles in Low Ethylene Controlled Atmosphere Stored Apples. Lebensmittel-Wissenschaft u Technologie. (Food Science and Technology) 24(2):145-151.

Yang, S.F. 1985. Biosynthesis and Action of Ethylene. HortScience 20:41.

Young, R.E., R.J. Romani y J.B. Biale. 1962. Carbon Dioxide Effects on Fruit Respiration. II. Response of Avocados, Bananas and Lemons. Plant Physiology 37(3):416-422.

Zagory, D. y A.A. Kader. 1989. Quality Maintenance in Fresh Fruits and Vegetables by Controlled Atmospheres. In: ACS Symposium Series No. 405. Quality Factors of Fruits and Vegetables. Chemistry and Technology. (Ed: Jen, J.J.). American Chemical Society. Washington, D.C., U.S.A.

- Workman, M. y J. Twomey. 1967. The Influence of Oxygen Concentrations During Storage on Seed Potato Respiratory Metabolism and on Field Performance. Proceedings of the American Society for Horticultural Science, 90:268-274.
- Yahia, E.M., K.E. Nelson y A.A. Kader. 1983. Postharvest Quality and Storage Life of Grapes as Influenced by CO Added to Air or Controlled Atmosphere. Journal of the American Society for Horticultural Science 108(6):1067-1071.
- Yahia, E.M., O. Hernández y M. Rivera. 1990a. Las Respuestas de Papaya (*Papaya carica* L.) Almacenada en Atmósferas Modificadas con Niveles Insecticidas de Oxígeno. Tecnología de Alimentos 25(2):16. (Resúmen).
- Yahia, E.M., F.W. Liu y T.E. Acree. 1990b. Changes of Some Odor-Active Volatiles in Controlled Atmosphere-Stored Apples. Journal of Food Quality 13:185-202
- Yahia, E.M., D. Ke y A.A. Kader. 1991a. Responses of 'Bartlett' Pears to Insecticidal O₂ and CO₂ Atmospheres. HortScience 26(6):126. (Resúmen)
- Yahia, E.M. y A.A. Kader. 1991b. Physiological and Biochemical Responses of Avocado Fruits to O₂ and CO₂ Stress. Plant Physiology 96(Suplem.):36
- Yahia, E.M., F.W. Liu y T.E. Acree. 1991c. Changes of Some odor-active volatiles in Low Ethylene Controlled Atmosphere Stored Apples. Lebensmittell-Wissenschaft u Technologie. (Food Science and Technology) 24(2):145-151.
- Yang, S.F. 1985. Biosynthesis and Action of Ethylene. HortScience 20:41.
- Young, R.E., R.J. Romani y J.B. Biale. 1962. Carbon Dioxide Effects on Fruit Respiration. II. Response of Avocados, Bananas and Lemons. Plant Physiology 37(3):416-422.
- Zagory, D. y A.A. Kader. 1989. Quality Maintenance in Fresh Fruits and Vegetables by Controlled Atmospheres. In: ACS Symposium Series No. 405. Quality Factors of Fruits and Vegetables. Chemistry and Technology. (Ed: Jen, J.J.). American Chemical Society. Washington, D.C., U.S.A.

- Workman, M. y J. Twomey. 1967. The Influence of Oxygen Concentrations During Storage on Seed Potato Respiratory Metabolism and on Field Performance. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 90:268-274.
- Yahia, E.M., K.E. Nelson y A.A. Kader. 1983. Postharvest Quality and Storage Life of Grapes as Influenced by CO Added to Air or Controlled Atmosphere. Journal of the American Society for Horticultural Science 108(6):1067-1071.
- Yahia, E.M., O. Hernández y M. Rivera. 1990a. Las Respuestas de Papaya (*Papaya carica* L.) Almacenada en Atmósferas Modificadas con Niveles Insecticidas de Oxígeno. Tecnología de Alimentos 25(2):16. (Resumen).
- Yahia, E.M., F.W. Liu y T.E. Acree. 1990b. Changes of Some Odor-Active Volatiles in Controlled Atmosphere-Stored Apples. Journal of Food Quality 13:185-202
- Yahia, E.M., D. Ke y A.A. Kader. 1991a. Responses of 'Bartlett' Pears to Insecticidal O₂ and CO₂ Atmospheres. HortScience 26(6):126. (Resumen).
- Yahia, E.M. y A.A. Kader. 1991b. Physiological and Biochemical Responses of Avocado Fruits to O₂ and CO₂ Stress. Plant Physiology 96(Suplem.):36
- Yahia, E.M., F.W. Liu y T.E. Acree. 1991c. Changes of Some odor-active volatiles in Low Ethylene Controlled Atmosphere Stored Apples. Lebensmittel-Wissenschaft u Technologie. (Food Science and Technology) 24(2):145-151.
- Yang, S.F. 1985. Biosynthesis and Action of Ethylene. HortScience 20:41.
- Young, R.E., R.J. Romani y J.B. Biale. 1962. Carbon Dioxide Effects on Fruit Respiration. II. Response of Avocados, Bananas and Lemons. Plant Physiology 37(3):416-422.
- Zagory, D. y A.A. Kader. 1989. Quality Maintenance in Fresh Fruits and Vegetables by Controlled Atmospheres. In: ACS Symposium Series No. 405. Quality Factors of Fruits and Vegetables. Chemistry and Technology. (Ed: Jen, J.J.). American Chemical Society. Washington, D.C., U.S.A.