

# EVALUACIÓN DE LA CALIDAD E INCIDENCIA DE HONGOS EN FRUTOS REFRIGERADOS DE ZAPOTE MAMEY (*Pouteria sapota* (Jacq.)

H. E. Moore and Stearn

## EVALUATION OF REFRIGERATED SAPOTE MAMEY [*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore and Stearn] QUALITY AND INCIDENCE OF FUNGI

Rafael Gómez-Jaimes<sup>1</sup>, Daniel Nieto-Ángel<sup>1\*</sup>, Daniel Téliz-Ortiz<sup>1</sup>, J. Antonio Mora-Aguilera<sup>1</sup>,  
M. Teresa Martínez-Damián<sup>2</sup>, Mateo Vargas-Hernández<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fitopatología. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. (farrag9@hotmail.com). <sup>2</sup>Departamento de Fitotecnia y Suelos. Universidad Autónoma Chapingo. 56230. Chapingo, Estado de México.

### RESUMEN

El bajo nivel tecnológico en la producción del zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn) hace necesario implementar nuevas alternativas de manejo postcosecha como las temperaturas bajas de almacenamiento, con el propósito de prolongar la vida de anaquel de los frutos y mantener su calidad. El efecto de las temperaturas de almacenamiento en la calidad se evaluó en frutos cosechados en madurez fisiológica. Los frutos fueron almacenados (7d) a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) (testigo), y a 10, 13 y 15 °C por 13, 18 y 24 d. Después del almacenamiento los frutos fueron evaluados a los 0, 3 y 6 d a temperatura ambiente. La mejor temperatura de refrigeración en frutos de mamey fue 13 °C, ya los frutos mostraron firmeza, color [valor de L\* (brillo), índice de saturación de color (*chroma*) y ángulo de tono (*hue*)], sólidos solubles totales (°Brix) y acidez, así como pérdida de peso en fruto, similares a las obtenidas en los frutos testigo en madurez de consumo. En los frutos almacenados a 13 °C a los 18 d hubo 10 % de pudrición, y 10 a 30 % a los 24 d. Los frutos a 15 °C entraron en senescencia después de 13 d de almacenamiento y presentaron la mayor pudrición. Los frutos expuestos a 10 °C no maduraron y no hubo cambios en firmeza, sólidos solubles totales y color de la pulpa. Con base en sus características morfológicas y moleculares los hongos que indujeron pudriciones en frutos se identificaron como *Pestalotiopsis paeoniicola* y *Lasiodiplodia theobromae*.

**Palabras clave:** Almacenamiento, calidad, hongos, maduración, pudrición.

### INTRODUCCIÓN

El zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn) es un fruto con un comportamiento climatérico y tasa alta de respiración. Las pérdidas importantes en postcosecha se debe a la

\* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: Noviembre, 2007. Aprobado: Noviembre, 2008

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 43: 37-48. 2009.

### ABSTRACT

The low technology production of sapote mamey [*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore and Stearn] makes it necessary to implement new alternatives, such as low storage temperatures, for postharvest management to prolong shelf life and preserve fruit quality. The effect of storage temperatures on quality of fruits harvested at physiological maturity was studied. Control fruits were stored (7 d) at room temperature (approximately 25 °C), and experimental fruits were stored at 10, 13, and 15 °C for 13, 18, and 24 d. After storage, the fruits were evaluated at room temperature on days 0, 3, and 6. The best cold storage temperature for mamey fruits was 13 °C; fruits exhibited firmness, color [L\* (luminosity), color saturation index (*chroma*), and hue angle], total soluble solids (°Brix) and acidity, as well as weight loss, similar to those of the control fruits at eating ripeness. At 13 °C, 10 % fruit rot occurred at 18 d, and 10 to 30 % at 24 days. At 15 °C, fruits began senescence after 13 d of storage and exhibited the most rotting. Fruits exposed to 10 °C storage did not ripen, and there were no changes in firmness, total soluble solids or pulp color. Based on their morphological and molecular characteristics, the fungi that induced rotting in fruits were identified as *Pestalotiopsis paeoniicola* and *Lasiodiplodia theobromae*.

**Key words:** Storage, quality, fungi, ripening, rot.

### INTRODUCTION

Sapote mamey [*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore and Stearn] is a climacteric fruit with a high rate of respiration. Major postharvest losses are caused by rapid ripening and susceptibility to internal rotting induced by fungi (Díaz *et al.*, 2001; Ergun *et al.*, 2005). The fungi reported to cause rotting in mamey fruits are *Lasiodiplodia* spp. and *Pestalotia* spp. (Bautista *et al.*, 2002; Yahia and Ariza, 2003; Ariza-Flores *et al.*, 2005). In México, fruit is rarely refrigerated or treated after harvest (Díaz *et al.*, 2000). Low temperatures is one of the main tools for prolonging

maduración rápida y susceptibilidad a pudriciones internas inducidas por hongos (Díaz *et al.*, 2001; Ergun *et al.*, 2005). Los hongos reportados en frutos de mamey como causales de pudriciones son *Lasiodiplodia* spp. y *Pestalotia* spp. (Bautista *et al.*, 2002; Yahia y Ariza, 2003; Ariza-Flores *et al.*, 2005). En México, la fruta rara vez es refrigerada y no recibe tratamientos postcosecha (Díaz *et al.*, 2000). La temperatura baja es una de las principales herramientas para prolongar la vida útil de los frutos, ya que mantiene su calidad y aumenta el tiempo de conservación (Gamage y Rahman, 2003). Sin embargo, bajas temperaturas de almacenamiento producen desórdenes fisiológicos en tejidos, modifican la fase climatérica y afectan la madurez de los frutos (Thompson, 1998). La exposición de frutos de mamey a temperaturas menores a 10 °C induce severos daños por frío, lo que causa oscurecimiento y lignificación de la pulpa, maduración desigual y adherencia de la pulpa a las semillas (Díaz *et al.*, 2000; Alia *et al.*, 2002). La Cañada de Huamuxtitlan, en la montaña baja del estado de Guerrero, es una importante zona productora de mamey con bajo nivel tecnológico, con productividad y rentabilidad incipiente. Pero su rentabilidad podría mejorar aplicando nuevas alternativas de manejo postcosecha como las temperaturas bajas de almacenamiento, para prolongar la vida de anaquel de los frutos, sin afectar su calidad. Alia *et al.* (2005a, 2005b) y Díaz *et al.* (2000) probaron temperaturas de refrigeración en frutos de mamey a 10 y 15 °C. Los resultados sugieren la necesidad de evaluar temperaturas intermedias para mejorar su efecto en la incidencia de enfermedades postcosecha. Por tanto, el presente trabajo tuvo como objetivo determinar las temperaturas óptimas de almacenamiento de los frutos de mamey y evaluar su repercusión en la calidad postcosecha y en la incidencia de enfermedades inducidas por hongos, así como la identificación morfológica y molecular de los patógenos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Frutos de mamey (*Pouteria sapota*) fueron recolectados de árboles en la comunidad de Alpoeyca, Guerrero, México, en mayo de 2006. La verificación del momento de cosecha se realizó con base en la experiencia de los productores de la zona, quienes retiran una porción de cáscara de la base y ápice del fruto para observar la coloración naranja de la pulpa, como indicador de que el fruto está listo para cosecharse y alcanzar su madurez de consumo con calidad óptima. Hubo cuatro temperaturas de almacenamiento para los frutos: ambiente (aproximadamente 25 °C) testigo por 7 d; y 10, 13 y 15 °C por 13, 18 y 24 d, con humedad relativa de 85 a 90%. Los frutos fueron evaluados a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) a los 0, 3 y 6 d después del almacenamiento (DDA) en cada temperatura; y a 0, 3, 6 y 7 d de almacenamiento para el testigo.

fruit shelf life, maintaining quality and increasing storage time (Gamage and Rahman, 2003). However, low storage temperatures produce physiological disorders in tissues, modify the climacteric phase, and affect fruit ripening (Thompson, 1998). Exposing mamey fruits to temperatures below 10 °C induces severe cold injury, which causes uneven ripening and pulp darkening, lignification, and adherence to the seed (Díaz *et al.*, 2000; Alia *et al.*, 2002). La Cañada de Huamuxtitlan, in the low mountainous region of the state of Guerrero, is an important mamey-growing area. The level of technology is low, and productivity and profits are meager. But new alternatives for postharvest management, such as low storage temperatures to prolong fruit shelf life without affecting quality, could improve profitability. Alia *et al.* (2005a, 2005b) and Díaz *et al.* (2000) tested mamey fruits in contrasting cold storage temperatures of 10 and 15 °C. The results suggest, the need to evaluate intermediate temperatures and determine their effect on incidence of postharvest diseases. Therefore, the objective of this study was to determine the optimal storage temperatures for mamey fruits and evaluate their repercussions on postharvest quality and incidence of diseases induced by fungi, and to identify the pathogens morphologically and molecularly.

## MATERIALS AND METHODS

Mamey fruits (*Pouteria sapota*) were collected from trees in the community of Alpoeyca, Guerrero, Mexico, in May 2006. Harvest time was determined based on the experience of the local growers, who remove a portion of peel from the base and apex of the fruit to observe the orange coloring of the pulp as an indicator that the fruit is ready for harvest and will reach eating ripeness with optimal quality. Four storage temperatures were tested: room temperature (approximately 25 °C) control for 7 d; and experimental temperatures 13 and 15 °C for 13, 18, and 24 d, at 85 to 90% relative humidity. The fruits stored at each temperature were assessed at room temperature (approximately 25 °C) 0, 3, and 6 d after storage (DAS); and control fruits were evaluated on days 0, 3, 6, and 7.

### Quality variables

#### Pulp firmness

Firmness was determined with a Chatillon® penetrometer with cone probe (11 mm diameter, 5 mm long) 0 to 12 kg capacity. Readings for each fruit were recorded in kg cm<sup>-2</sup>.

#### Pulp color

L\* (luminosity), saturation index (chroma) and hue angle were determined with a Hunter LabÔ colorimeter, which indicated the L\*

## Variables de calidad

### Firmeza de la pulpa

Fue evaluada con un penetrómetro Chatillon® con puntal cónico (11 mm diámetro y 5 mm altura), con capacidad de 0 a 12 kg. Las lecturas de cada fruto fueron registradas en kg cm<sup>-2</sup>.

### Color de la pulpa

L\* (brillo), índice de saturación (*chroma*) y ángulo de tono (*hue*) se determinaron con un colorímetro Hunter Lab®, el cual indicó los valores L\*, a\* y b\*. Los cambios de color se determinaron calculando la relación b\*/a\*, para obtener el ángulo de tono (arc tan b\*/a\*) e índice de saturación [(a\*<sup>2</sup> + b\*<sup>2</sup>)<sup>1/2</sup>] (McGuire, 1992).

### Sólidos solubles totales (°Brix)

Fueron determinados con la metodología de la A.O.A.C. (1984) con un refractómetro digital marca ATAGO- Pelete PR-101® (0 a 45%). El resultado se expresó en unidades °Brix.

### Acidez titulable

Fue medido por la técnica de la A.O.A.C. (1984). Se licuaron 20 g de pulpa en 100 mL de agua destilada, se tituló con hidróxido de sodio al 0.1 N con pH final de 8.1 y se expresó en porcentaje de ácido málico.

### Pérdida de peso de los frutos

Los frutos fueron pesados en una balanza digital y el peso inicial se comparó en cada fecha de evaluación y se calculó el porcentaje de pérdida de peso del fruto

$$\left( \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100 \right).$$

### Diseño del experimento

En frutos almacenados a temperatura ambiente (caracterización del testigo) se usó un diseño completamente al azar, donde los días de almacenamiento (0, 3, 6 y 7) fueron los tratamientos; la unidad experimental fue un fruto con 10 repeticiones. Para evaluar el efecto de la temperatura en frutos almacenados se utilizó un diseño en cuadro latino; las unidades experimentales (un fruto) se ubicaron en bloques en función de los gradientes de variabilidad: tres tratamientos (10, 13 y 15 °C), días de almacenamiento (13, 18 y 24) y DDA (0, 3 y 6) con 10 repeticiones. Se hizo un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias (Tukey; p≤0.05) usando SAS (SAS Institute, Inc., 1996).

values a\* and b\*. Changes in color were detected by calculating b\*/a\* to obtain hue angle (arc tan b\*/a\*) and saturation index [(a\*<sup>2</sup> + b\*<sup>2</sup>)<sup>1/2</sup>] (McGuire, 1992).

### Total soluble solids (°Brix)

Total soluble solids were determined with the A.O.A.C. (1984) method with an ATAGO-Pelete PR-101® (0 a 45 %) digital refractometer. The results were expressed in °Brix.

### Titrateable acidity

Titrateable acidity was measured with the A.O.A.C. (1984) technique. Twenty g of pulp was liquefied in 100 mL of distilled water and titrated with 0.1 N sodium hydroxide with final pH of 8.1. Results were expressed as percentage of malic acid.

### Fruit weight loss

Fruits were weighed on a digital scale and initial weight was compared with fruit weight on each assessment date. Percentage of fruit weight loss was calculated:

$$\left( \frac{\text{Initial weight} - \text{Final weight}}{\text{Initial weight}} \times 100 \right).$$

### Experimental design

For fruits stored at room temperature (characterization of the control), a complete random design was used in which days in storage (0, 3, 6, and 7) were the treatments; the experimental unit was one fruit with 10 replications. To evaluate the effect of temperature on stored fruits, a Latin square design was used; experimental units (one fruit) were placed in blocks in function of the variability gradients: three treatments (10, 13, and 15 °C), days in storage (13, 18, and 24), and DAS (0, 3, and 6) with 10 replications. An analysis of variance (ANOVA) and comparison of means (Tukey; p≤0.05) were performed using SAS (SAS Institute, Inc., 1996).

### Incidence and identification of fungi in fruits

The fruits used to evaluate the effect of temperatures on rotting were those used in the quality variables. Control fruits were evaluated on days 6, 7, and 10 of storage at room temperature. Incidence of fungi was considered as the number of fruits with rot in the pulp (darkening and presence of mycelia) and was expressed in percentage of total fruits used for each date of evaluation at each storage temperature: fruits at room temperature and those stored at 10, 13, and 15 °C.

### Identification of fungi

Fungi were identified in pulp fragments exhibiting rot. These fragments were disinfected by immersion in 1.5% sodium hypochlorite

## Incidencia e identificación de hongos en frutos

### Pudrición de frutos (%)

Los frutos utilizados para evaluar el efecto de las temperaturas en las pudriciones fueron los usados en las variables de calidad. Los frutos testigo fueron evaluados a los 6, 7 y 10 d de almacenamiento a temperatura ambiente. La incidencia de hongos fue considerada como el número de frutos con pudriciones en la pulpa (ennegrecimiento y presencia de micelio) y expresada en porcentaje del total de los frutos utilizados para cada fecha de evaluación en cada temperatura de almacenamiento: frutos a temperatura ambiente, a 10, 13 y 15 °C.

### Identificación de hongos

Se hizo a partir de fragmentos de pulpa con pudrición que se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1.5% por 3 min de inmersión; fueron lavados 1 min en agua destilada estéril y secados en papel absorbente estéril. El agua y el papel fueron esterilizados 15 min en una olla de presión a 121 °C. La pulpa fue sembrada en cajas de petri de plástico con medio de cultivo de papa zanahoria agar (PCA: 20 g papa, 20 g de zanahoria, 18 g agar, y 1000 mL agua destilada). Las cajas fueron incubadas en luz negra continua con una lámpara de 40 W, a  $25 \pm 1$  °C en el día. De los aislamientos purificados se realizaron cultivos monospóricos en agar-agua (AA: 18 g agar en 1000 mL agua destilada), y se incrementaron en PCA. Las claves usadas para la identificación de *Pestalotiopsis* fueron la de Sutton (1980) para género y la de Wei *et al.* (2005) para la especie. Para la identificación de *Lasiodiplodia* se usaron las claves de Punithalingam (1976), Sutton (1980) y Burgess *et al.* (2006).

### Imágenes para microscopía

Flores de mamey inoculadas con una suspensión de  $1 \times 10^6$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  de *Pestalotiopsis* se fijaron en glutaraldehído al 3% en amortiguador de fosfatos Sorensen's 0.1M pH 7.2 por 24 h. Los tejidos se deshidrataron gradualmente en soluciones acuosas de etanol (30, 40, 50, 60 y 70%) por 1 h en cada concentración. Cortes longitudinales de los pétalos se hicieron en las muestras en etanol al 70%, y la deshidratación continuó en etanol a 80, 90 y 100%. Las muestras fueron secadas en una secadora de punto crítico (Sandri-780A<sup>®</sup>), montadas sobre porta muestras con cinta adhesiva de cobre y recubiertas con oro por 4 min en una ionizadora (Ion Sputter JFC-1100, Jeol, Fine Coat<sup>®</sup>). Las muestras se observaron en un microscopio electrónico de barrido (JEOL JSM 6390<sup>®</sup>) a 15 Kv. Las imágenes de esporas de *Lasiodiplodia* se tomaron con un microscopio de luz (III CARL ZEISS<sup>®</sup>) con cámara digital para microscopía (PAX cam 3<sup>®</sup>).

### Caracterización molecular de aislamientos

De cada cultivo monospórico de *Pestalotiopsis* y *Lasiodiplodia* se extrajo ADN con la técnica de Ahrens y Seemüller (1992). Las

for 3 min, washed for 1 min in sterile distilled water, and dried on sterile absorbent paper. Water and paper were sterilized 15 min in a pressure cooker at 121 °C. The pulp was placed in plastic Petri dishes with a potato-carrot-agar culture medium (PCA: 20 g potato, 20 g carrot, 18 g agar, and 1000 mL distilled water) and incubated at  $25 \pm 1$  °C during the day under continuous black light provided by a 40 W lamp. From the purified isolates, monosporaceous cultures were done in agar-water (AA: 18 g agar in 1000 mL distilled water), and increased in PCA. The keys used to identify *Pestalotiopsis* were that of Sutton (1980), for the genus, and that of Wei *et al.* (2005) for the species. For identification of *Lasiodiplodia*, the Punithalingam (1976), Sutton (1980) and Burgess *et al.* (2006) keys were used.

### Images for microscopy

Mamey flowers inoculated with a suspension of  $1 \times 10^6$  *Pestalotiopsis* conidia  $\text{mL}^{-1}$  were fixed in 3% glutaraldehyde in Sorensen's phosphate buffer 0.1M, pH 7.2, for 24 h. The tissues were dehydrated gradually in aqueous solutions of ethanol (30, 40, 50, 60, and 70%) for 1 h in each concentration. Lengthwise sections of the petals were cut in 75% ethanol, and dehydration continued in 80, 90 and 100% ethanol. The samples were dried in a critical point drier (Sandri-780A<sup>®</sup>), mounted on a slide with adhesive copper tape, and gold plated for 4 min in an ionizer (Ion Sputter JFC-1100, Jeol, Fine Coat<sup>®</sup>). The samples were observed in an electron scanning microscope (JEOL JSM 6390<sup>®</sup>) at 15 Kv. Images of the *Lasiodiplodia* spores were taken with a light microscope (III CARL ZEISS<sup>®</sup>) with a digital camera for microscopy (PAX cam 3<sup>®</sup>).

### Molecular characterization of isolates

DNA was extracted from each monosporaceous *Pestalotiopsis* and *Lasiodiplodia* culture with the Ahrens and Seemüller (1992) technique. Internal regions ITS1 and ITS2 were amplified by polymerase chain reaction (PCR) with the combination of the initiators ITS5 (GGAAAGTAAAAGTCGTAACAAGG)/ITS4 (TCCTCCGCTTATTG ATATGC), following Ahrens and Seemüller (1992), with the following modification: sterile ultra pure water (13.22  $\mu\text{L}$ ), buffer solution TBE 1X (2.5  $\mu\text{L}$ )  $\text{MgCl}_2$  at 2.5 mM (2.08  $\mu\text{L}$ ), dNTPs at 0.2 mM (2  $\mu\text{L}$ ), initiators ITS4 and ITS5 at 20  $\mu\text{mol}$  (2  $\mu\text{L}$  of each), polymerase DNA (Biogenica<sup>®</sup>) at 1 U (0.2  $\mu\text{L}$ ), and sample of DNA at 80 ng (1  $\mu\text{L}$ ). The amplified product was purified with the Wizard Kit (Promega<sup>®</sup>) and sent to the Department of Cell Biology of the Universidad Nacional Autónoma de México. The sequences were analyzed with the software Lasergene<sup>®</sup> 2001, V5 (DNASTAR, Inc.) and aligned with the database of the Gene Bank of the National Center for Biotechnological Information (NCBI), USA ([www.ncbi.nlm.nih.gov/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)). The sequences with the highest similarity values were considered for comparison with those obtained in our study.

## RESULTS AND DISCUSSION

Fruits stored at room temperature reached eating ripeness 7 d after harvest. The quality attributes

regiones internas ITS1 e ITS2 fueron amplificadas por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con la combinación de iniciadores ITS5 (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG)/ITS4. (TCCTCCGCT TATTGATATGC), según Ahrens y Seemüller (1992), con la siguiente modificación: agua ultra pura estéril (13.22 µL), solución amortiguadora TBE 1X (2.5 µL) MgCl<sub>2</sub> a 2.5 mM (2.08 µL), dNTPs A 0.2 Mm (2 µL), iniciadores ITS4 e ITS5 a 20 µmol (2 µL de cada uno), ADN polimerasa (Biogenica®) a 1 U (0.2 µL) y muestra de ADN a 80 ng (1 µL). El producto amplificado fue purificado con el kit Wizard (Promega®) y enviado para su secuenciación a la Facultad de Biología Celular de la Universidad Autónoma de México. Las secuencias se analizaron con el software Lasergene® 2001, V5 (DNASTAR, Inc.) y se alinearon con la base de datos del Banco de Genes del Nacional Center for Biotechnology Information (NCBI), USA (www.ncbi.nlm.nih.gov/). Las secuencias con el valor más alto de similaridad se consideraron para su comparación con las obtenidas en este estudio.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los frutos almacenados a temperatura ambiente alcanzaron su madurez de consumo 7 d después de la cosecha. Los atributos de calidad como firmeza, color, sólidos solubles totales, acidez y pérdida de peso cambiaron durante el almacenamiento ( $p \leq 0.05$ ) (Cuadro 1; Figura 1). La firmeza de los frutos disminuyó al aumentar el tiempo de almacenamiento de 9 kg·cm<sup>-2</sup> en madurez fisiológica a 0.3 kg·cm<sup>-2</sup> en madurez de consumo, coincidiendo con Díaz *et al.* (2000 y 2003).

### Efecto de las temperaturas bajas de almacenamiento

#### Firmeza de la pulpa

Los frutos almacenados a 10 °C presentaron mayor firmeza en los periodos de almacenamiento (13, 18 y

firmness, color, total soluble solids, acidity, and weight loss changed during storage ( $p \leq 0.05$ ) (Table 1; Figure 1). Fruit firmness decreased with storage time from 9 kg cm<sup>-2</sup> at physiological maturity to 0.3 kg cm<sup>-2</sup> at eating ripeness, coinciding with Díaz *et al.* (2000 and 2003).

### Effect of low storage temperatures

#### Pulp firmness

Fruits stored at 10 °C exhibited greater firmness during the storage periods (13, 18, and 24 d), while those exposed to 13 °C and 15 °C were not different in any of the evaluations except for fruits refrigerated for 13 and 24 d and evaluated zero DAS (Table 2). Fruits refrigerated at 13 °C and 15 °C decreased in firmness in all of the evaluations (0, 3, and 6 DAS) of each storage period (Figure 2); this was similar to the firmness obtained in control fruits. However, fruits at 15 °C, once transferred to room temperature, decreased in firmness as of zero DAS and, consequently, had a shorter shelf life. Firmness of fruits stored at 10 °C did not decrease, and thus did not reach eating ripeness during the storage periods (13, 18, and 24 d), likely because of cold injury. Similar results were observed in mamey fruits subjected to temperatures of 10 °C or lower (Díaz *et al.*, 2000 and 2003; Thompson, 2003).

#### Pulp color

The pulp of fruits stored at 10 °C exhibited higher values for luminosity (L\*), because the fruits did not ripen normally. Fruits stored at 13 and 15 °C for 13 d was not different on zero DAS, nor was it different in those stored for 18 d and evaluated on 3 and 6 DAS. On the remaining days, fruits stored at 15 °C had lower luminosity (Table 2). The decrease in luminosity

**Cuadro 1. Cambios en algunas variables de calidad postcosecha en frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn, almacenados a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C).**

**Table 1. Changes in some postharvest quality variables in sapote mamey fruits [*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore and Stearn], stored at room temperature (approximately 25 °C).**

Variables	Días a temperatura ambiente				C.V
	0	3	6	7	
Firmeza	9.15 a <sup>†</sup>	6.42 b	3.61 c	0.30 d	33.59
Valor de L*	50.03 a	48.90 a	47.80 a	38.69 b	8.05
Índice de saturación	32.43 a	36.45 a	33.76 a	32.73 a	13.96
Ángulo de tono	53.84 a	48.46 ab	45.85 ab	46.24 ab	11.47
Sólidos solubles totales	10.80 c	19.48 b	25.28 ab	30.04 a	22.37
Acidez	0.49 a	0.37 a	0.49 a	0.46 a	31.67
Pérdida de peso	0.0d	5.57 c	9.27 b	11.91 a	11.29

<sup>†</sup>Valores con diferente letra en una hilera son diferentes ( $p \leq 0.05$ ). Firmeza (kg cm<sup>-2</sup>); valor de L\* (brillo); índice de saturación (*chroma*); ángulo de tono (*hue*); sólidos solubles totales (°Brix); acidez (% de ácido málico); pérdida de peso (%).

24 d); mientras que los expuestos a 13 y 15 °C no fueron diferentes en casi todas las evaluaciones, excepto a los cero DDA en 13 y 24 d de refrigeración (Cuadro 2). Los frutos refrigerados a 13 °C y 15 °C disminuyeron su firmeza en todas las evaluaciones (0, 3 y 6 DDA) en cada periodo de almacenamiento (Figura 2), lo cual fue similar a la firmeza obtenida en los frutos testigo. Sin embargo, los frutos a 15 °C una vez transferidos a temperatura ambiente mostraron una disminución de la firmeza a partir de los cero DDA y, como consecuencia, presentaron una menor vida de anaquel. Los frutos almacenados a 10 °C al no disminuir su firmeza, no alcanzaron la madurez de consumo en los periodos de almacenamiento (13, 18 y 24 d), debido probablemente a daño por frío. Resultados similares fueron observados en frutos de mamey sometidos a temperaturas de 10 °C o menores (Díaz *et al.*, 2000 y 2003; Thompson, 2003).

**Color de la pulpa**

La pulpa de los frutos almacenados a 10 °C mostraron los valores mayores de brillo (valor de L\*), debido a que los frutos no maduraron normalmente. Los

of fruits refrigerated at 15 °C could be due to darkening of the pulp because of its senescent stage. Similar results were found for mamey fruits stored at 15 °C (Alia *et al.*, 2005b). For saturation index (chroma) 13 and 18 d of storage, fruits in treatments 10, 13, and 15 °C had similar color purity. However, the fruits kept at 10 °C had fewer changes after 24 d of storage (Table 2). Alia *et al.* (2002) indicated that the saturation index of the fruits decreases as the fruits mature since the pulp becomes opaque and darkens. Fruits stored at 15 °C had the greatest changes after 24 d because of its advanced state of senescence. Hue angles were not different among fruits stored at 10, 13, and 15 °C (Table 2). This behavior was also observed by Díaz *et al.* (2000) and Alia *et al.* (2007).

**Total soluble solids**

Total soluble solids (°Brix) increased during storage and there were significant differences (p≤0.05) among treatments. Fruits stored at 15 and 13 °C had higher contents of total soluble solids than those stored at 10 °C, with the exception of 13 d of storage 0 and 6 DAS and 18 d of storage 3 DAS when total soluble solids were

**Cuadro 2. Efecto de las temperaturas y periodos de almacenamiento refrigerado en algunas variables de calidad postcosecha de frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn.**

**Table 2. Effect of temperatures and cold storage periods on some postharvest quality variables of sapote mamey fruits [*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore and Stearn].**

Temperatura (°C)	13 d almacenamiento refrigerado			18 d almacenamiento refrigerado			24 d almacenamiento refrigerado		
	Días a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) después del almacenamiento refrigerado								
	0	3	6	0	3	6	0	3	6
Firmeza									
10	9.86 a <sup>†</sup>	9.42 a	5.00 a	10.86 a	10.28 a	4.22 a	8.56 a	6.80 a	5.23 a
13	9.69 a	6.13 b	0.70 b	3.39 b	1.73 b	0.22 b	5.40 b	0.84 b	0.19 b
15	4.88 b	3.38 b	0.50 b	1.12 b	0.76 b	0.18 b	0.19 c	0.23 b	0.14 b
C.V	34.82	41.31	98.80	52.40	46.38	132.48	58.96	87.25	109.30
Valor de L*									
10	48.1 a	48.1 a	43.4 a	48.6 a	44.6 a	44.1 a	46.2 a	48.6 a	44.3 a
13	47.3 a	46.3 ab	38.5 b	44.0 ab	43.8 a	43.8 a	43.77ab	42.8 b	41.2 ab
15	45.5 a	43.8 b	41.6 ab	43.4 b	43.3 a	43.3 a	39.55 b	35.3 c	35.8 b
C.V	12.64	7.87	8.81	10.07	8.76	8.06	10.04	8.47	16.36
Índice de saturación									
10	29.2 a	34.8 a	35.2 a	33.3 a	35.5 a	32.0 a	31.5 a	43.6 a	30.6 a
13	30.6 a	36.5 a	35.5 a	32.4 a	33.8 a	30.2 a	27.6 ab	42.8 b	27.8 a
15	32.7 a	37.4 a	35.2 a	33.1 a	31.8 a	30.6 a	27.1 b	35.3 c	27.3 a
C.V	14.67	9.36	13.53	11.49	14.45	16.55	12.42	12.83	13.38
Ángulo de tono									
10	50.9 a	47.3 a	49.0 a	51.4 a	48.4 a	49.5 a	51.2 a	51.0 a	46.3 a
13	50.2 a	50.4 a	41.6 a	54.5 a	50.5 a	47.1 a	51.8 a	50.3 a	51.3 a
15	54.3 a	48.3 a	50.2 a	57.1 a	52.7 a	51.8 a	51.2 a	50.1 a	55.8 a
C.V	15.85	10.79	12.79	13.77	13.23	13.20	10.95	12.7	16.78

<sup>†</sup> Valores con diferente letra en una columna son diferentes (p≤0.05). Firmeza (kg·cm<sup>-2</sup>); valor de L\* (brillo); índice de saturación (*chroma*); ángulo de tono (*hue*).

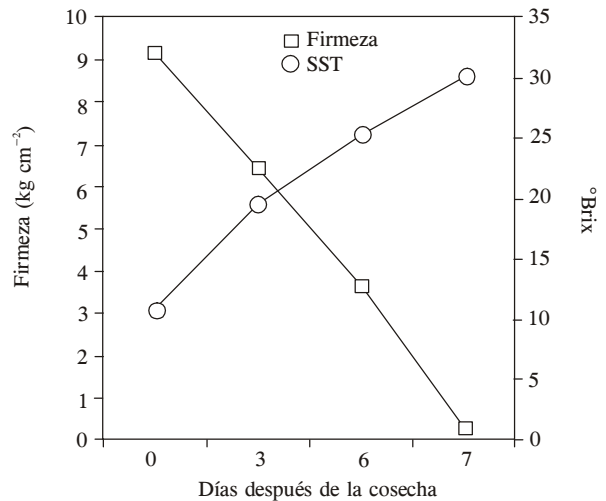
frutos almacenados a 13 y 15 °C no fueron diferentes a los 13 d en los cero DDA y 18 días de almacenamiento en 3 y 6 DDA; en los demás días los frutos a 15 °C registraron un brillo menor (Cuadro 2). La disminución del brillo en frutos refrigerados a 15 °C pudo deberse al oscurecimiento de la pulpa, debido a su estado senescente. Hubo resultados similares en frutos de mamey almacenados a 15 °C (Alia *et al.*, 2005b). Para el índice de saturación (*chroma*) 13 y 18 d de almacenamiento, los frutos presentaron una pureza similar del color en los tratamientos de 10, 13 y 15 °C; sin embargo, los frutos mantenidos a 10 °C tuvieron los cambios menores a 24 d de almacenamiento (Cuadro 2). Alia *et al.* (2002) indicaron que el índice de saturación de los frutos disminuye a medida que los frutos maduran, ya que la pulpa se opaca y oscurece. Los frutos a 15 °C tuvieron los cambios mayores a los 24 d de almacenamiento debido a su avanzado estado de senescencia. En ángulo de tono (*hue*), los frutos almacenados a 10, 13 y 15 °C no fueron diferentes (Cuadro 2). Este comportamiento también fue observado por Díaz *et al.* (2000) y Alia *et al.* (2007).

**Sólidos solubles totales**

Los sólidos solubles totales (°Brix) aumentaron durante el almacenamiento y presentaron diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0.05$ ). Los frutos almacenados a 15 y 13 °C tuvieron mayor contenido de sólidos solubles totales y a 10 °C se presentó el menor valor, a excepción de los 13 d de almacenamiento en 0 y 6 DDA y 18 d a los 3 DDA, donde los sólidos solubles totales de los frutos fueron similares en las tres temperaturas (Cuadro 3). Los frutos almacenados a 13 y 15 °C, iniciaron con 11 °Brix y terminaron en un intervalo de 29 a 33 en madurez de consumo, resultados similares a los de los frutos almacenados a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C). De manera similar, Díaz *et al.* (2000, 2001 y 2003) mencionaron que el contenido de sólidos solubles totales en la madurez de consumo de los frutos de mamey puede fluctuar de 27 a 36 °Brix. Los frutos almacenados a 10 °C no alcanzaron la madurez de consumo, lo cual influyó en la disminución de la concentración de azúcares.

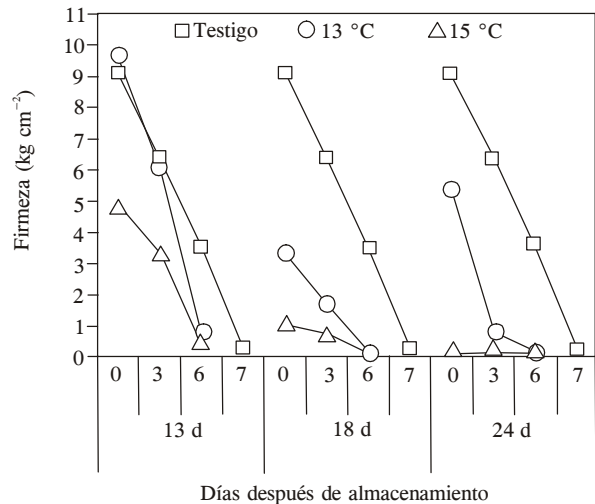
**Acidez**

La acidez evaluada en ácido málico, que se encuentra en mayor concentración en frutos de mamey (Thompson, 2003), cambió debido al almacenamiento a 10, 13 y 15 °C (Cuadro 3). Villanueva *et al.* (2000), Thompson (2003) y Alia *et al.* (2007) mencionaron que el mamey es un fruto con bajo porcentaje de acidez y generalmente decrece durante el proceso de



**Figura 1.** Cambios en firmeza y sólidos solubles totales en frutos de mamey conservados a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) por 7 d.

**Figure 1.** Changes in firmness and total soluble solids in mamey fruits kept at room temperature (approximately 25 °C) for 7 d.



**Figura 2.** Comparación de la firmeza de frutos de mamey refrigerados a 13 y 15 °C por 13, 18 y 24 d y evaluados a los 0, 3 y 6 d después del almacenamiento con frutos conservados a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) por 7 d.

**Figure 2.** Comparison of firmness of mamey fruits refrigerated at 13 and 15 °C for 13, 18, and 24 d and assessed 0, 3, and 6 d after storage with fruits kept at room temperature (approximately 25 °C) for 7 d.

similar for all three temperatures (Table 3). Initial °Brix of fruits stored at 13 and 15 °C was 11, and the end value at eating ripeness was within the range of 20 to 33; these results are similar to those of fruits stored at room temperature (approximately 25 °C). Similarly,

maduración. El contenido inicial de ácido málico fue 0.49 % y 0.25 % el mínimo. Valores similares de ácido málico fueron observados en frutos de mamey almacenados a 5, 10 y 15 °C (Alia *et al.* 2001). El porcentaje menor de acidez se presentó en frutos expuestos a 10 °C y el mayor ocurrió a 24 d de almacenamiento a 10, 13 y 15 °C (Cuadro 3).

**Pérdida de peso de los frutos**

Hubo diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0.05$ ) durante el almacenamiento. La pérdida de peso fue (23 %) mayor en los frutos almacenados a 15 °C y fue menor en los refrigerados a 10 °C (5 a 14 %) y 13 °C (9 a 18 %), excepto a los cero DDA en 13 d de refrigeración (Cuadro 3). Alia *et al.* (2007) mencionaron que en frutos de mamey almacenados entre 10 y 15 °C y 90 % de humedad relativa, se disminuye la pérdida de peso al reducir y mantener una transpiración menor. La mejor temperatura de almacenamiento refrigerado fue 13 °C, ya que los frutos maduraron de forma similar a los expuestos a temperatura ambiente, con buena apariencia visual y calidad comercial, que se prolongó hasta los 24 d de refrigeración y 3 DDA. Resultados similares fueron reportados por Kader (2002) y Thompson (2003). Los frutos almacenados a 10 °C mostraron la menor pérdida de peso, pero su maduración fue desigual.

Díaz *et al.* (2000, 2001, and 2003) mention that the content of total soluble solids at eating ripeness of mamey fruits can fluctuate between 27 and 36 °Brix. Fruits stored at 10 °C did not reach the eating ripeness stage; this had an influence on the decrease in sugar concentration.

**Acidity**

Acidity, determined as malic acid, which is found in higher concentrations in mamey fruits (Thompson, 2003), changed due to storage at 10, 13, and 15 °C (Table 3). Villanueva *et al.* (2000), Thompson (2003), and Alia *et al.* (2007) state that mamey fruit has a low percentage of acidity, which generally decreases during the ripening process. Initial malic acid content was 0.49% and the minimum was 0.25%. Similar values of malic acid were observed in mamey fruits stored at 5, 10, and 15 °C (Alia *et al.*, 2001). The lowest percentage of acidity occurred in fruits exposed to 10 °C and the highest was found after 24 d of storage at 10, 13, and 15 °C (Table 3).

**Fruit weight loss**

There were significant differences ( $p \leq 0.05$ ) among treatments during storage. Weight loss was greater (23 %) in fruits stored at 15 °C and it was lower in

**Cuadro 3. Efecto de las temperaturas y periodos de almacenamiento refrigerado en algunas variables de calidad postcosecha de frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn).**  
**Table 3. Effect of temperatures and cold storage periods on some postharvest quality variables of sapote mamey fruits [*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore and Stearn].**

Temperatura (°C)	13 d almacenamiento refrigerado			18 d almacenamiento refrigerado			24 d almacenamiento refrigerado		
	Días a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) después del almacenamiento refrigerado								
	0	3	6	0	3	6	0	3	6
Sólidos solubles totales									
10	19.8 a†	20.2 b	27.9 a	21.4 b	27.4 a	27.4 b	21.2 b	25.1 b	29.6 b
13	23.9 a	28.3 a	29.8 a	26.3 a	28.4 a	29.5 ab	26.7 a	31.9 a	31.0 ab
15	22.5 a	28.3 a	30.4 a	30.9 a	29.2 a	31.2 a	29.8 a	33.5 a	32.9 a
C.V	18.15	11.26	11.17	16.17	8.34	11.53	17.69	12.36	9.17
Acidez									
10	0.44 a	0.41 a	0.27 a	0.35 a	0.25 b	0.36 ab	0.45 a	0.46 a	0.46 a
13	0.49 a	0.43 a	0.30 a	0.31 a	0.28 ab	0.30 b	0.46 a	0.44 a	0.44 a
15	0.43 a	0.42 a	0.36 a	0.38 a	0.36 a	0.42 a	0.38 a	0.41 a	0.44 a
C.V	20.33	24.83	26.51	30.76	32.38	27.41	26.69	27.67	25.66
Pérdida de peso									
10	5.1 a	7.5 c	9.7 c	7.07 b	10.3 b	12.7 b	8.4 c	11.7 c	13.7 c
13	9.1 a	7.6 b	12.5 b	12.2 a	14.7 a	18.1 a	14.1 b	16.8 b	18.4 b
15	10.8 a	13.2 a	15.6 a	13.5 a	15.7 a	17.7 a	18.0 a	20.7 a	23.0 a
C.V	16.98	15.00	16.26	13.83	13.53	19.06	14.21	14.90	13.59

† Valores con diferente letra en una columna son diferentes ( $p \leq 0.05$ ). Sólidos solubles totales (°Brix); acidez (% de ácido málico); pérdida de peso (%).



### Incidencia e identificación de hongos en frutos

En los frutos de mamey almacenados a 10 °C por 18 y 24 d la pudrición fue 10 % en la última evaluación (6 DDA). En los frutos refrigerados a 13 °C la pudrición fue 10 % a los 18 d de almacenamiento y 10 a 30 % a los 24 d (a los 3 y 6 DDA). En los frutos a 15 °C la pudrición fue 10 a 50 % en los periodos de almacenamiento (13, 18 y 24 d) en las evaluaciones a 0, 3 y 6 DDA (Figura 3). En los frutos testigo la pudrición fue 100 % a los 10 d de almacenamiento.

Las pudriciones en los frutos iniciaron con la presencia de micelio blanco cerca de la base del pedúnculo y que se extendió a todo el fruto, principalmente entre la pulpa y la cáscara. Al madurar los frutos y entrar en senescencia, la pulpa se tornó negra y se desarrolló una pudrición total. Con los aislamientos se identificó a *Lasiodiplodia theobromae* y *Pestalotiopsis paeoniicola*, cuyo hongo no ha sido reportado en frutos de mamey. *L. theobromae* (Figura 4) desarrolló abundante micelio, septado, ramificado y de gris oscuro a negro; los conidios fueron inicialmente unicelulares hialinos, granulados, subovoides a elipsoides oblongos con pared delgada y base truncada; al madurar desarrollaron una pared gruesa y septa a la mitad, café oscuro y frecuentemente estriados longitudinalmente (20.5-26.8 × 12.4-15.0 μm; media 24.4 × 14.1 μm). Estas observaciones coincidieron con las de Punithalingam (1976), Sutton (1980), Burgess *et al.* (2006). *P. paeoniicola* presentó micelio superficial, septado y ramificado; acérvulos con masas de esporas negras conspicuas y errumpentes de forma oval o irregular; conidios con 5 células, fusiformes, alargados o ligeramente curvados en la mitad (18.3-27.8 × 6.3-7.9 μm; media 24.9 × 7.15 μm); 3 células intermedias (13.5 - 19.1 μm; media 17 μm); 2 a 3 apéndices apicales sin ramificaciones, (15.8 - 27.5 μm; media 22.6 μm de largo); 1 apéndice basal céntrico no ramificado (3.41 - 6.26 μm; media 5.0 μm de largo) (Figura 5). Sutton (1980), Wei *et al.* (2005), Keith *et al.* (2006) y Liu *et al.* (2007) registraron medidas similares de los conidios. *Lasiodiplodia* spp. y *Pestalotiopsis* spp. pueden desarrollarse de 15 a 30 °C (Bautista *et al.*, 2002; Sommer *et al.*, 2002), y su temperatura óptima de desarrollo es 25 a 30 °C para *Lasiodiplodia* (Zhang y Swingle, 2005; Bautista *et al.*, 2002) y de 22 a 28 °C para *Pestalotiopsis* (Keith *et al.*, 2006). Estos resultados explican porqué en los frutos almacenados a 15 °C hubo mayor pudrición que a 10 y 13 °C. Las pudriciones de frutos almacenados a 13 °C ocurrieron debido al estado avanzado de madurez de los frutos. *Pestalotiopsis* spp. y *Lasiodiplodia* spp. pueden ser patógenos oportunistas que atacan en condiciones de estrés o en órganos deteriorados de las plantas (Sommer

fruits refrigerated at 10 °C (5 to 14%) and 13 °C (9 to 18 %), except on day zero after 13 d of refrigeration (Table 3). Alia *et al.* (2007) found that weight loss in mamey fruits stored between 10° and 15 °C with 90 % relative humidity decreased when transpiration is reduced and maintained low. The best storage temperature was 13°C; the fruits matured in a similar manner as those exposed to room temperature, exhibiting good visual appearance and commercial quality up to 24 d of refrigeration and 3 DAS. Similar results were reported by Kader (2002) and Thompson (2003). Fruits stored at 10 °C had lower weight loss, but ripening was uneven.

### Incidence and identification of fungi on fruits

In mamey fruits stored at 10 °C for 18 and 24 d, rot was 10 % on the last day of evaluation (6 DAS). In fruits refrigerated at 13 °C, rot was 10 % at 18 d of storage and 10 to 30 % on day 24 (3 and 6 DAS) . At 15 °C, rot was 10 to 50% in the three storage periods (13, 18, and 24 d) evaluated at 0, 3, and 6 DAS (Figure 3). In control fruits rot was 100 % on day 10 of storage.

Fruit rot initiated with the presence of white mycelia near the base of the peduncle, extending over the entire fruit, principally between pulp and peel. As the fruit ripened and entered into senescence, the pulp became

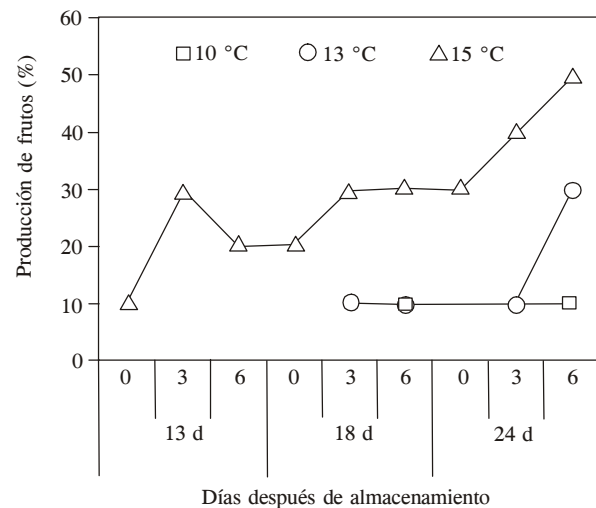


Figura 3. Porcentaje de frutos con pudrición por *Lasiodiplodia theobromae* y *Pestalotiopsis paeoniicola* en frutos de zapote mamey almacenados a diferentes temperaturas durante 13, 18 y 24 d y evaluados a 0, 3 y 6 d después del almacenamiento a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C).

Figure 3. Percentage of fruits with rot caused by *Lasiodiplodia theobromae* and *Pestalotiopsis paeoniicola* in sapote mamey fruits stored at different temperatures for 13, 18 and 24 d and assessed at room temperature (approximately 25 °C) 0, 3 and 6 d after storage.

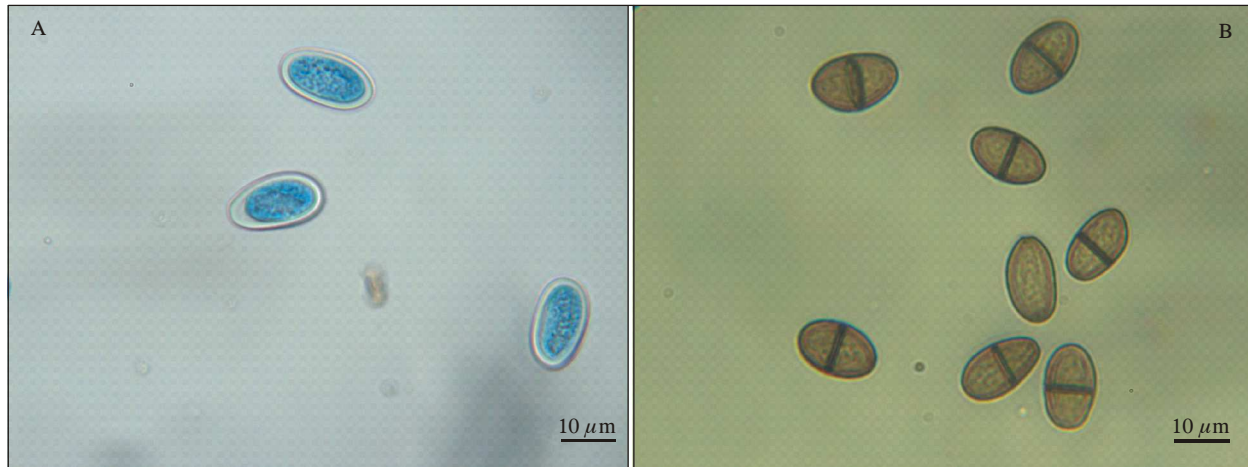


Figura 4. *Lasiodiplodia theobromae*: A, conidios inmaduros; B, conidios maduros.  
 Figure 4. *Lasiodiplodia theobromae*: A, immature conidia; B, mature conidia.

*et al.*, 2002; Keith *et al.*, 2006 y Guang *et al.*, 2007). En los frutos almacenados a 10 °C hubo menor pudrición, pero la pulpa no tuvo calidad para el consumo.

#### Caracterización molecular

Las secuencias genéticas de los hongos fueron depositadas en el banco de genes (NCBI) para su homologación; *Pestalotiopsis* spp. con número de acceso EU400221 tuvo 99 % de similitud con *P. paeoniicola*, y *Lasiodiplodia* spp. con número de acceso AY662402.1 tuvo 99 % de similitud con *L. theobromae*.

En los frutos almacenados a 15 °C y 13 °C no hubo efectos en su maduración; sin embargo, después de 13 d de almacenamiento los frutos a 15 °C entraron en senescencia y presentaron la mayor pudrición. La mejor temperatura de almacenamiento fue 13 °C ya que se retardó la maduración hasta los 24 d de refrigeración y 3 DDA. La pulpa de los frutos mostró características en firmeza, color valor de L\* (brillo), índice de saturación (*chroma*) y ángulo de tono (*hue*), sólidos solubles totales (°Brix) y acidez, así como pérdida de peso en fruto, similares a las obtenidas en los frutos testigo en madurez de consumo (7 d de almacenamiento). La pudrición de frutos se inició a los 18 d y el daño fue sólo 10 % a los 24 d de refrigeración y 3 DDA. Los frutos a 10 °C mostraron maduración desigual después de exponerse a temperatura ambiente y no hubo cambios deseables en firmeza, color y sólidos solubles totales; por tanto, los frutos no alcanzaron la calidad de consumo. Los frutos testigo a los 10 d de almacenamiento presentaron 100% de pudrición. Con base a sus características morfológicas y moleculares, los hongos asociados a pudrición de fruto se identificaron

black and total decay developed. With the isolates, we identified *Lasiodiplodia theobromae* and *Pestalotiopsis paeoniicola*, which has not been reported in mamey fruits. *L. theobromae* (Figure 4) developed abundant septate, ramified, dark gray to black mycelia. Conidia were initially single-celled, hyaline, granular, subovoid to ellipsoid oblong, with thin wall and truncate base. As they matured, they developed a thick wall and a septum at the middle, dark brown and frequently striate lengthwise (20.5-26.8×12.4-15.0 µm; mean 24.4×14.1 µm). These observations coincided with those of Punithalingam (1976), Sutton (1989), Burgess *et al.*, (2006). *P. paeoniicola* had superficial mycelia, septate and ramified; acervuli with masses of conspicuous, erumpent black spores of oval or irregular shape; conidia with 5 cells, fusiform, elongated or slightly curved at the middle (18.3-27.8×6.3-7.9 µm; mean 24.9×7.15 µm) 3 intermediate cells (13.5-19.1 µm; mean 17 µm); 2 to 3 apical appendices with no ramifications (15.8-27.5 µm; mean 22.6 µm long); 1 non-ramified centric basal appendix (3.41-6.26 µm; mean 5.0 µm long) (Figure 5). Sutton (1980, Wei *et al.* (2005), Keith *et al.* (2006) and Liu *et al.* (2007) recorded similar conidial measurements. *Lasiodiplodia* spp. and *Pestalotiopsis* spp. can grow at temperatures of 15 to 30 °C (Bautista *et al.*, 2002; Sommer *et al.*, 2002), and their optimal growing temperature is 25 to 30 °C for *Lasiodiplodia* (Zhang and Swingle, 2005; Bautista *et al.*, 2002) and 22 to 28 °C for *Pestalotiopsis* (Keith *et al.*, 2006). These results explain the higher percentages of rot at 15 °C than at 10 and 13 °C. Rotting of fruits stored at 13 °C occurred because of the advanced stage of fruit ripeness. *Pestalotiopsis* spp. and *Lasiodiplodia* spp. may be opportunist pathogens that attack during conditions of stress or when plant organs are deteriorated

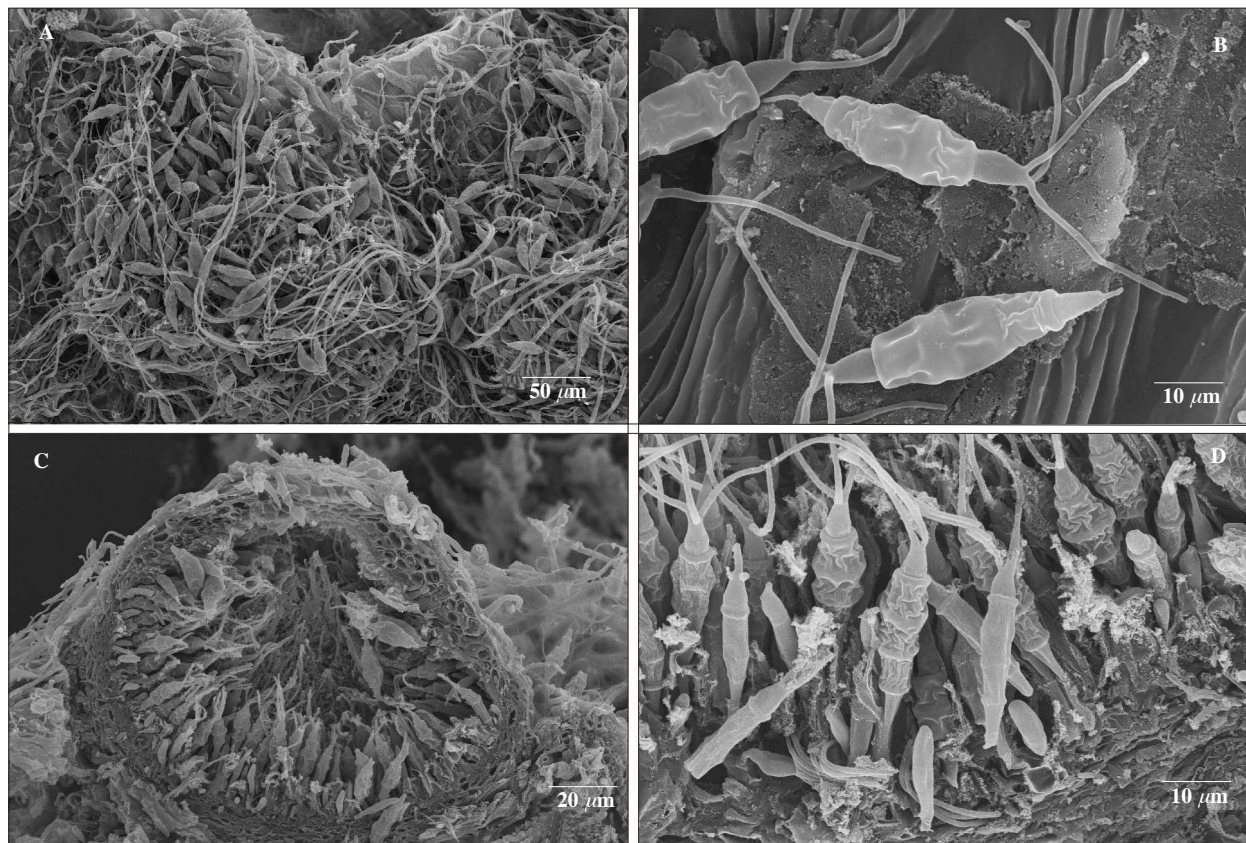


Figura 5. Estructuras de *Pestalotiopsis paeoniicola*: A, conidios y micelio; B, conidios maduros; C, sección vertical de un acérvulo; D, conidióforos y conidios maduros e inmaduros.

Figure 5. Structures of *Pestalotiopsis paeoniicola*: A, conidia and mycelia; B, conidia; C, vertical section of an acervulus, D, conidiophores and mature and immature conidia.

como *Pestalotiopsis paeoniicola* y *Lasiodiplodia theobromae*.

### LITERATURA CITADA

- Ahrens, U., and E. Seemüller. 1992. Detection of DNA of plant pathogenic mycoplasma-like organisms by polymerase chain reaction that amplifies a sequence of 16S rRNA gene. *Phytopathology* 82: 828-832.
- Alia T., I., M. T. Colinas L., M. T. Martínez D., and M. R. Soto H. 2002. Physiological, biochemical and quality factors in sapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) fruits during postharvest. *Rev. Chapingo Serie Hort.* 8:263-281.
- Alia T., I., M. T. Colinas L., M. T. Martínez D., y M. R. Soto H. 2005a. Daños por frío en zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn). I. Cambios en volátiles, firmeza y azúcares totales. *Rev. Fitotec. Mex.* 28:17-24.
- Alia T., I., M. T. Colinas L., M. T. Martínez D., y M. R. Soto H. 2005b. Daños por frío en zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn). II. Cambios en fenoles totales y actividad enzimática. *Rev. Fitotec. Mex.* 28:25-32.
- Alia T., I., R. Villanueva A., C. Pelayo Z., M. T. Colinas L., V. López M., and S. Bautista B. 2007. Postharvest physiology and technology of sapote mamey fruit (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn. *Postharvest Biol. and Technol.* 45: 285-297.

(Sommer *et al.*, 2002; Keith *et al.*, 2006; Guang *et al.*, 2007). There was less rot in fruits stored at 10 °C, but the pulp was not of eating quality.

### Molecular characterization

The fungus gene sequences were deposited in the gene bank (NCBI) for homologation; *Pestalotiopsis* spp., with access number EU400221, coincided 99% with *P. paeoniicola*, while *Lasiodiplodia* spp., with access number AY662402.1, had 99% similarity to *L. theobromae*.

In fruits stored at 15 °C and 13 °C there were no effects on their ripening process; however, after 13 d of storage at 15 °C the fruits began senescence and had the highest percentage of rot. The best storage temperature was 13 °C since ripening was delayed up to 24 d of refrigeration and 3 DAS. At this temperature, fruit pulp exhibited firmness, L\* color value (luminosity), saturation index (chroma) and hue angle, total soluble solids (1Brix), and acidity, as well as weight



- A.O.A.C. 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 14 th. ed. Arlington, Virginia, USA. 1140 p.
- Ariza F., R., A. Barrios A., E. Vázquez G., S. Navarro G., A. Michel A., y A. Otero G. 2005. Tecnología de Postcosecha en Mango, Papaya y Sapote Mamey. INIFAP. Libro Técnico No. 2. México. 221 p.
- Bautista B., S., J. C. Díaz P, and L. L. Barrera N. 2002. Postharvest fungal rots of sapote mamey *Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn. *Postharvest Biol. and Technol.* 24:197-200.
- Burgess, I. T., A. P. Barber, S. Mohali, W. Beer, and J. M. Wingfield. 2006. Three new *Lasiodiplodia* spp. from the tropics, recognized based on DNA sequence comparisons and morphology. *Mycologia* 98: 423-435.
- Díaz P., J. C., S. Bautista, and R. Villanueva. 2000. Quality changes in sapote mamey fruit during ripening and storage. *Postharvest Biol. and Technol.* 18: 67-73.
- Díaz P., J. C., S. Bautista, R. Villanueva, and R. López G. 2003. Modeling the ripening of sapote mamey [*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore and Stearn] fruit at various temperatures. *Postharvest Biol. and Technol.* 28:199-202.
- Ergun, M., S. A. Sargent, A. J. Fox, J. H. Crane, and D. J. Huber. 2005. Ripening and quality responses of mamey sapote fruit to postharvest wax and 1-methylcyclopropene treatments. *Postharvest Biol. and Technol.* 36:127-134.
- Guang, W. J., X. Tong, L. D. Guo, A. R. Liu, Y. Zhang, and X. H. Pan. 2007. Endophytic *Pestalotiopsis* species with plants of *Podocarpaceae*, *Theaceae* and *Taxaceae* in southern China. *Fungal Diversity* 24: 55-74.
- Kader, A. A. 2002. Postharvest biology and technology: An overview. *In: Kader, A. A. (ed). Postharvest Technology of Horticultural Crops.* Ed. University of California Agricultural and Natural Resources, Publication 3311. pp: 39-54.
- Keith, L. M., M. E. Velásquez, and F. T. Zee. 2006. Identification and characterization of *Pestalotiopsis* spp. causing scab disease of guava, *Psidium guajava*, in Hawaii. *Plant Dis.* 90: 16-23.
- Liu, A. R., T. Xu, and L. D. Guo. 2007. Molecular and morphological description of *Pestalotiopsis hainanensis* sp. Nov., a new endophyte from a tropical region of China. *Fungal Diversity* 24: 23-36.
- McGuire, R. G. 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience* 27: 1254-1255.
- Punithalingam, E. 1976. *Botryodiplodia theobromae*. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria. No. 519. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- SAS Institute Inc. 1996. SAS User's Guide. Statistics. Release 6.12 ed. SAS Institute, Inc. Cary, NC. 1028 p.
- Skrede, G. 1996. Fruits. *In: Jeremiah, L. E. (ed). Freezing Effects on Food Quality.* Ed. Marcel Dekker, Inc. New York, USA. pp: 183-245.
- loss, which were similar to those of control fruits at eating ripeness (7 d storage). Rot began on day 18 and injury was only 10 % in fruits stored in refrigeration 24 d and evaluated 3 DAS. Fruits stored at 10 °C exhibited uneven ripening after exposure to room temperature, and there were no desirable changes in firmness, color or total soluble solids; therefore the fruits did not reach eating quality. The control fruits had rotted 100 % by day 10 of storage. Based on their morphological and molecular characteristics, the fungi associated with fruit rot were identified as *Pestalotiopsis paeoniicola* and *Lasiodiplodia theobromae*.

End of the English version—



- Sommer, N. F., R. J. Fortlage, and D. C. Edwards 2002. Postharvest diseases of selected commodities. *In: Kader, A.A. (ed). Postharvest Technology of Horticultural Crops.* Ed. University of California Agricultural and Natural Resources, Publication 3311. pp: 197-249.
- Sutton, B. C. 1980. The Coleomycetes: Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 700 p.
- Thompson, A. K. 1998. Controlled Atmosphere Storage of Fruit and Vegetables. Cab International. Wallingford, UK. 278 p.
- Thompson, A. K. 2003. Fruit and Vegetables Harvesting, Handling and Storage. Blackwell Publishing Ltd. 460 p.
- Villanueva A., R., S. Evangelista L., M. L. Arenas O., J. C. Díaz P., and S. Bautista B. 2000. Biochemical and physics changes during development and postharvest of sapote mamey fruit (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn). *Rev. Chapingo Serie Hort.* 6:63-72.
- Wei, J. G., T. Xu, L. D. Guo, and X. H. Pan. 2005. Endophytic *Pestalotiopsis* species from Southern China. *Mycosystema* 24:481-493.
- Yahia, E. M., and R. Ariza. 2003. Postharvest hot air treatments effect on insect mortality and quality of sapote mamey fruit (*Pouteria sapota*). *Acta Horticulturae* 604:691-695.
- Zhang, J. X., and P. P. Swingle. 2005. Effects of curing on green mold and stem-end rot citrus fruit and its potencial application under Florida parking system. *Plant Dis.* 89:834-840.