

Influencia del riego y radiación solar sobre el contenido de fitoquímicos en la piel de frutos de aguacate 'Hass'*

Irrigation and solar radiation influence on content of phytochemicals in peel of 'Hass' avocado

Samuel Salazar-García^{1§}, Raquel Enedina Medina-Carrillo² y Arturo Álvarez-Bravo¹

¹Campo Experimental Santiago Ixcuintla-INIFAP, A. P. 100, Santiago Ixcuintla, Nayarit 63300, México. (alvarez.arturo@inifap.gob.mx). ²Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas y Farmacéuticas-Universidad Autónoma de Nayarit, Ciudad de la Cultura "Amado Nervo", Tepic, Nayarit 63155, México. (raquelmedinacarrillo@hotmail.com). [§]Autor para correspondencia: samuelsalazar@prodigy.net.mx.

Resumen

La actividad fotosintética y la concentración de fitoquímicos en las plantas son muy influenciadas por la radiación solar incidente y su disminución provoca importantes cambios en la concentración tanto de clorofilas como de compuestos producidos en las rutas del metabolismo secundario. Aunado a las condiciones de iluminación, la disponibilidad de agua y la temperatura causan cambios bioquímicos y fisiológicos que afectan el metabolismo, desarrollo y rendimiento de un cultivo. El cambio climático es determinante para que estreses bióticos y/o abióticos se presenten durante el desarrollo de las plantas por lo que el conocimiento de sus efectos podría resultar en un manejo agronómico más adecuado. El objetivo de este estudio fue cuantificar el contenido de clorofila y compuestos fenólicos totales en la piel de frutos de aguacate 'Hass' cultivados bajo diferente manejo de agua (con y sin riego) y cobertura del fruto (cubiertos y descubiertos). El manejo de agua no modificó el contenido de fitoquímicos en la piel de los frutos. Respecto al grado de exposición a la radiación solar, los frutos descubiertos presentaron una concentración mayor de compuestos fenólicos totales y clorofila, comparados con los frutos cubiertos (estresados por falta de luz).

Palabras clave: *Persea americana*, clorofilas, fenólicos, fitoquímicos, radiación solar.

Abstract

The photosynthetic activity and concentration of phytochemicals in plants are strongly influenced by solar radiation and its reduction causes significant changes in concentration of both chlorophyll and compounds produced in secondary metabolism pathways. In addition to lighting conditions, water availability and temperature cause biochemical and physiological changes affecting metabolism, development and crop yield. Climate change is crucial for biotic and abiotic stresses to be present during plant development, so the knowledge of its effects could result in a better crop management. The objective of this study was to quantify chlorophyll content and total phenolic compounds in peel of 'Hass' avocado grown under different water management (with and without irrigation) and fruit coverage (covered and uncovered). Water management did not modify the content of phytochemicals in peel. Regarding the degree of exposure to solar radiation, uncovered fruits had a higher concentration of total phenolic compounds and chlorophyll, compared with covered fruit (stressed by lack of light).

Keywords: *Persea americana*, chlorophyll, phenolic, phytochemicals, solar radiation.

* Recibido: noviembre de 2015
Aceptado: febrero de 2016

Introducción

La fotosíntesis está relacionada directa o indirectamente con muchos procesos finamente regulados en las células y variaciones en ellos se reflejan en cambios en la fisiología de la planta y finalmente en su crecimiento y supervivencia. Diversos estudios han reportado que la exposición a condiciones subóptimas o condiciones de estrés (agobio hídrico, temperaturas extremas, exceso de radiación solar, estrés mineral, entre otras) resultan en una disminución de la fotosíntesis como resultado de la supresión o activación de ciertas rutas metabólicas (Rakic, 2015). Por ejemplo, la disminución en la cantidad de radiación solar, y en general bajo cualquier tipo de estrés se reduce la actividad fotosintética al disminuir el contenido de clorofila (Cambrón-Sandoval *et al.*, 2011).

Los metabolitos secundarios son fitoquímicos esenciales que son afectados por el espectro de luz y actúan como compuestos de defensa, así como de protección frente a la radiación ultravioleta y a agentes oxidantes. Aunado a lo anterior, ciertos compuestos fenólicos y flavonoides, muestran actividad microbiana, antioxidante, antifúngica y de atrapamiento de radicales libres (Ouzounis *et al.*, 2015).

Los compuestos fenólicos, ampliamente distribuidos en las plantas, son producidos en las rutas del shikimate, las pentosas fosfato y fenilpropanoide; su importancia, además del papel que juegan en el crecimiento, reproducción y protección, radica en que también contribuyen en el color y características sensoriales de los frutos (Balasundram *et al.*, 2006). En la piel de frutos de aguacate se han identificado diversos pigmentos, principalmente carotenoides, clorofilas y cianinas (Donetti y Terry, 2012). En los aguacates con piel verde el color es debido principalmente a la clorofila, mientras que en el caso de 'Hass', cuya piel se torna negra conforme madura, su coloración es causada en parte por el contenido de antocianinas (Ashton *et al.*, 2006). El contenido de fitoquímicos en la piel de frutos de aguacate ha sido reportado para diferentes cultivares, destacando 'Hass' (raza Guatemalteca x Mexicana) por su mayor concentración de compuestos fenólicos totales y menor de clorofilas A y B, comportamiento opuesto al cv. Tonnage (raza Guatemalteca x Antillana) (Wang *et al.*, 2010).

La variación en las condiciones agronómicas (especie, cultivar, estado de desarrollo, órgano de la planta, competencia, fertilización, entre otras), la estación del año, factores climáticos, disponibilidad de agua, luz (intensidad,

Introduction

Photosynthesis is directly or indirectly with many processes finely regulated in the cells and variations in them are reflected in changes in plant physiology and finally in their growth and survival. Several studies have reported that exposure to suboptimal conditions or stress conditions (water stress, extreme temperatures, excessive solar radiation, mineral stress, etc.) result in a decrease of photosynthesis as a result of the suppression or activation of certain metabolic pathways (Rakic, 2015). For example, the decrease in the amount of solar radiation, and generally under any kind of stress photosynthetic activity reduces by decreasing chlorophyll content (Cambrón-Sandoval *et al.*, 2011).

The secondary metabolites are essential phytochemicals that are affected by the light spectrum and act as defense compounds, as well as protection against ultraviolet radiation and oxidizing agents. In addition to this, certain flavonoids and phenolic compounds, show microbial, antioxidant, antifungal and free radical trapping activity (Ouzounis *et al.*, 2015).

Phenolic compounds are widely distributed in plants, produced in shikimate pathways, pentose phosphate and phenylpropanoid; its importance, besides their role they play in growth, reproduction and protection, lies on contributing to color and sensory characteristics of fruits (Balasundram *et al.*, 2006). In peel of avocado fruits have been identified various pigments, primarily carotenoids, chlorophylls and cyanines (Donetti and Terry, 2012). In avocados with green peel, the color is primarily due to chlorophyll, whereas in the case of 'Hass', whose peel turns black as it matures, its color is caused in part by the content of anthocyanins (Ashton *et al.*, 2006). The content of phytochemicals in avocado peel has been reported for different crops, highlighting 'Hass' (Guatemalan x Mexican race) for its high concentration of total phenolic compounds and lower chlorophyll A and B, opposite behavior to cv. Tonnage (Guatemalan x Antillean race) (Wang *et al.*, 2010).

The variation in agronomic conditions (species, crop, development stage, plant organ, competition, fertilization, etc.), the season, weather conditions, water availability and light (intensity, quality and duration) have significant effects on the content and phytochemical profile in a crop (Björkman *et al.*, 2011). Avocado crop thrives from

calidad y duración) tiene efectos significativos sobre el contenido y perfil de fitoquímicos en un cultivo (Björkman *et al.*, 2011). El cultivo de aguacate prospera desde climas cálidos hasta templados, con un rango de temperatura para fotosíntesis de 10 a 35 °C y precipitación pluvial de 800 a 1 500 mm anuales (Ruíz *et al.*, 2013), aunque con riego puede cultivarse en ausencia de lluvias.

Para la zona productora de 'Hass' en el clima semicálido del estado de Nayarit, fue elaborado un modelo de predicción del desarrollo floral de brotes del flujo vegetativo de invierno el cual fue asociado a temperaturas ≤ 21 °C y los brotes del flujo de verano a temperaturas ≤ 19 °C (Salazar-García *et al.*, 2007). Estos modelos fueron probados en tres tipos de clima del estado de Michoacán (cálido subhúmedo, semicálido subhúmedo y templado subhúmedo) y sólo funcionó el modelo para brotes del flujo vegetativo de verano (temperaturas ≤ 19 °C; Salazar-García *et al.*, 2009). En otro estudio, Álvarez-Bravo y Salazar-García (2015) evaluaron un modelo de predicción del desarrollo floral desarrollado para Michoacán (basado en días frío acumulados con temperaturas ≤ 16 °C), que mostró una buena capacidad predictiva en brotes del flujo vegetativo de invierno de 'Hass' cultivado en seis tipos de clima de la región aguacatera de Michoacán. Lo anterior indica que existen diferentes umbrales de temperatura relacionados con el desarrollo floral del aguacate 'Hass'. Por otro lado, en climas cálidos, la piel del fruto de 'Hass' frecuentemente presenta mayor rugosidad y espesor, lo cual suele ser tomado como argumento para disminuir el precio del fruto, respecto al proveniente de regiones más frescas en los que predominan frutos con piel más delgada y menos rugosa. Sin embargo, estas características parecen no afectar la calidad física, química u organoléptica del fruto (Salazar-García *et al.*, 2016).

Los cambios en los componentes del sistema climático obedecen a una compleja relación entre agentes forzantes (tales como la producción de gases con efecto invernadero, cambios en la irradiación solar e insolación y cambios en la cobertura del suelo), procesos naturales y actividades humanas. Lo anterior conlleva a ciertas respuestas climáticas como la variación en la precipitación y temperatura (Pielke *et al.*, 2007). Con el cambio climático, las variaciones en los parámetros agro-climáticos afectarán el funcionamiento celular, y por lo tanto, la fisiología de los cultivos, además de afectar la calidad de los frutos en términos de gusto, apariencia, sabor y contenido de nutrientes, fitoquímicos y otros componentes dietarios. Lo anterior puede deberse a una elevada fotooxidación, a un aumento en la síntesis

temperate to warm climates with a temperature range for photosynthesis from 10 to 35 °C and rainfall from 800 to 1 500 mm per year (Ruiz *et al.*, 2013), though with irrigation can be grown under rain absence.

For "Hass" producing areas in the semi-warm climate from the state of Nayarit was developed a prediction model for floral development of winter vegetative flush shoot which was associated with temperatures ≤ 21 °C and summer flush shoot at temperatures ≤ 19 °C (Salazar-García *et al.*, 2007). These models were tested on three types of climate from the state of Michoacan (warm sub humid, semi warm sub humid and temperate sub humid) and the model only ran for summer vegetative flush shoots (temperatures ≤ 19 °C. Salazar-García *et al.*, 2009). In another study, Alvarez-Bravo and Salazar-García (2015) evaluated a prediction model of floral development developed for Michoacan (based on chilling days accumulated with temperatures ≤ 16 °C), which showed good predictive capability of winter vegetative flush shoots in 'Hass' grown under six types of climate from the avocado region of Michoacan. This indicates that there are different temperature thresholds related with floral development of 'Hass' avocado. On the other hand, in warm climates, 'Hass' peel often has greater roughness and thickness, which is usually taken as an argument to decrease fruit price, compared to that from cooler regions in which predominates fruit with thinner and less wrinkled peel. However, these characteristics do not seem to affect the physical, chemical or organoleptic quality of the fruit (Salazar-García *et al.*, 2016).

The changes in the components of the climate system obey to a complex relationship between forcing agents (such as the production of greenhouse gases, changes in solar irradiation and insolation and changes in land cover), natural processes and human activities. This leads to certain climatic responses as the variation in precipitation and temperature (Pielke *et al.*, 2007). With climate change, the variations in agro-climatic parameters will affect cell function, and therefore, crop physiology, besides affecting fruit quality in terms of taste, appearance, flavor and nutrient content, phytochemicals and other dietary components. This may be due to a high photo-oxidation, to an increase in the synthesis of reactive oxygen species (ROS) and secondary metabolites (Singh *et al.*, 2015). The aim of this study was to evaluate the effect of soil moisture condition and incident solar radiation on the content of phytochemicals in peel of 'Hass' avocado.

de especies reactivas del oxígeno (ERO) y de metabolitos secundarios (Singh *et al.*, 2015). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la condición de humedad del suelo y la radiación solar incidente sobre el contenido de fitoquímicos en la piel de frutos de aguacate 'Hass'.

Materiales y métodos

Características de los huertos. Fueron seleccionados dos huertos comerciales de aguacate 'Hass' en el Ejido El Rodeo, municipio de Tepic, Nayarit, uno ubicado a una altitud de 950 m (sin riego) y el otro a 1 200 m (con riego), con clima Semicálido subhúmedo (A)C(w2) y tipo de suelo Andosol.

En el huerto con riego se tiene un microaspersor de 34 L h⁻¹ por árbol y la frecuencia y lámina de riego es determinada mediante tensiómetros, procurando mantener la tensión de humedad del suelo entre 10 y 30 centibars lo que implica riegos de 3 a 4 h a intervalos de 14 a 21 días. La distribución de la precipitación pluvial en el huerto sin riego es de junio a septiembre, precipitándose en estos meses más de 1 000 mm lo que representa cerca de 90% anual.

Caracterización climática. Con datos provenientes de las normales climatológicas del servicio meteorológico nacional, se construyó un climograma mensual de la serie de tiempo 1981-2010 de la estación meteorológica 18 038 en Tepic, ubicada en las coordenadas latitud norte 21° 30' 00" y longitud oeste 104° 53' 00" con una altitud sobre el nivel del mar de 935 m.

Meteorología de la zona de estudio. Durante el tiempo que duró el estudio, mayo a septiembre 2014, en cada huerto se registró cada hora la temperatura ambiental con registradores automatizados HOBO H8 (Onset Computer, Witzprod, Englewood Cliffs, NJ, USA). Mediante el empleo del motor de base de datos Microsoft Access 2010 se integraron los datos de temperatura de los sensores de temperatura desde el inicio del periodo cálido y seco hasta cosecha (mayo-septiembre), calculándose la cantidad de días que superaron el promedio histórico mensual en temperatura máxima (Tmax) y mínima (Tmin). Asimismo, fueron cuantificados el máxima maximorum (Mmax) y mínima minimorum (Mmin) de temperatura por mes. Para el cálculo de las unidades calor acumuladas (UCA) por mes se utilizó la ecuación:

Materials and methods

Orchards characteristics. Two commercial orchards of 'Hass' avocado were selected in the Ejido El Rodeo, municipality of Tepic, Nayarit, one located at an altitude of 950 m (without irrigation) and the other at 1 200 m (irrigated) with semi-warm sub-humid climate (A)C(w2) and soil type Andosol.

The orchard with irrigation has a micro sprinkler of 34 L h⁻¹ per tree and frequency and irrigation depth is determined by tensiometers, trying to keep the soil moisture tension between 10 and 30 centibars, giving irrigations of 3 to 4 hours at intervals of 14 to 21 days. Rainfall distribution in the orchard without irrigation is from June to September, with precipitation during these months over 1 000 mm which represents about 90% annually.

Climate characterization. With data from normal weather stations of the National Weather Service, a monthly climograph was built with time series 1981-2010 from the weather station 18 038 in Tepic, located in 21° 30' 00" north latitude and 104° 53' 00" west longitude with an altitude of 935 masl.

Meteorology of the study area. During the study period from May to September 2014, in each orchard were recorded hourly ambient temperature with automated loggers HOBO H8 (Onset Computer, Witzprod, Englewood Cliffs, NJ, USA). Using the database engine Microsoft Access 2010 temperature data from the temperature sensors were integrated from the beginning of the warm and dry period until harvest (May-September), calculating the number of days that exceeded the monthly historical average of maximum (Tmax) and minimum (Tmin) temperature; also quantified the monthly maximum maximorum (Mmax) and minimum minimorum (Mmin) temperature. To calculate accumulated heat units (UCA) per month the following expression was used:

$$UCA = \left[\frac{T_{max} + T_{min}}{2} \right] - T_b; \text{ where: } T_b = 10 \text{ } ^\circ\text{C}$$

Fruit collection. In each of the orchards, ten trees were selected and in each tree eight fruits were marked, four for "covered" treatment and four for "uncovered" treatment. The fruits from "covered" treatment were covered with a brown paper cone with the base open, once it reached olive size (2-3 cm in diameter). The fruits analyzed were originated by the main flowering (winter 2013) and harvested

$$UCA = \left[\frac{T_{\max} + T_{\min}}{2} \right] - T_b; \text{ donde: } T_b = 10 \text{ } ^\circ\text{C}$$

Colecta de frutos. En cada uno de los huertos se seleccionaron diez árboles y en cada árbol fueron marcados ocho frutos, cuatro para el tratamiento "cubierto" y cuatro para el tratamiento "descubierto". Los frutos del tratamiento "cubierto" fueron cubiertos con un cono de papel de estraza, con la base descubierta, desde que alcanzaron el tamaño aceituna (2-3 cm de diámetro). Los frutos analizados fueron originados por la floración principal (invierno 2013) y cosechados en octubre 2014, con un contenido de materia seca en la pulpa $\geq 21.5\%$. Después de la cosecha, los frutos fueron llevados al Laboratorio de Frutifisiología del Campo Experimental Santiago Ixcuintla, donde fueron procesados. Los frutos fueron lavados con agua destilada con hipoclorito de sodio (200 mg L^{-1}) y se pesaron en una balanza de precisión (Ohaus modelo P2001, Florham, NJ, USA.). La longitud y diámetro se obtuvieron con un vernier digital (MTC500-196, Mitutoyo Co., Japón). Posteriormente, la piel de los frutos fue separada de la pulpa con un pelador de verduras. La piel fue congelada a $-20 \text{ } ^\circ\text{C}$ hasta el momento de la preparación de los extractos, en los cuales se determinó la concentración de fitoquímicos.

Concentración de fitoquímicos en la piel. La concentración de compuestos fenólicos totales y clorofilas A, B y totales, en la piel de los frutos de 'Hass' se determinó espectrofotométricamente en cuatro repeticiones, cada una de las cuales consistió en tres frutos, cada uno de distinto árbol. La lectura de absorbancia se hizo por triplicado. Los compuestos fenólicos totales (CFT), se cuantificaron con la metodología propuesta por Rodríguez-Carpena *et al.* (2011): la extracción se realizó en 10 g de piel con 30 mL de una mezcla acetona:agua (70:10). Una vez homogeneizada, la mezcla fue centrifugada a 2 500 rpm durante 3 minutos a $4 \text{ } ^\circ\text{C}$. El sobrenadante se colectó y el residuo se sometió a una extracción igual. Ambos extractos se combinaron. El contenido de compuestos fenólicos totales de cada extracto se determinó con el método de Folin-Ciocalteu propuesto por Soong y Barlow (2004) y modificado por Rodríguez-Carpena *et al.* (2011). La absorbancia fue medida a 765 nm y el contenido de compuestos fenólicos totales se calculó a partir de una curva estándar de ácido gálico y se reporta en mg equivalentes de ácido gálico por gramo de piel (mg EAG g^{-1} piel). Una parte del extracto obtenido para la determinación de compuestos fenólicos totales se incubó en oscuridad durante 48 h a $4 \text{ } ^\circ\text{C}$ para el análisis de clorofilas A, B y totales (C_A , C_B y C_T , respectivamente). La muestra se centrifugó a 4 000 rpm y se midió la absorbancia del sobrenadante a 647

in October 2014, with dry matter content in the pulp $\geq 21.5\%$. After harvest, the fruits were taken to the Fruit-physiology Laboratory from the Experimental Santiago Ixcuintla, where these were processed. The fruits were washed with distilled water with sodium hypochlorite (200 mg L^{-1}) and weighed on a precision balance (Ohaus model P2001, Florham, NJ, USA.). Length and diameter were obtained with a digital vernier (MTC500-196, Mitutoyo Co., Japan). Subsequently, the peel was separated from the pulp with a vegetable peeler. The peel was frozen at $-20 \text{ } ^\circ\text{C}$ until the time of preparing extracts in which the concentration of phytochemicals was determined.

Concentration of phytochemicals in peel. The concentration of total compounds and total chlorophyll A, B, on 'Hass' peel was determined spectrophotometrically in four replicates, each of which consisted of three fruits, each from different tree. Absorbance readings were made in triplicate. Total phenolic compounds (CFT) were quantified with the methodology proposed by Rodríguez-Carpena *et al.* (2011): the extraction was performed in 10 g of peel with 30 mL of a mixture acetone: water (70:10). Once homogenized, the mixture was centrifuged at 2 500 rpm for 3 minutes at $4 \text{ } ^\circ\text{C}$. The supernatant was collected and the residue was subjected to the same extraction process again. Both extracts were combined. Total phenolic content of each extract was determined using the Folin-Ciocalteu method proposed by Soong and Barlow (2004) and modified by Rodríguez-Carpena *et al.* (2011). Absorbance was measured at 765 nm and the total phenolic content was calculated from a standard curve of gallic acid and reported in mg equivalents gallic acid per gram of peel (mg EAG g^{-1} peel). A portion of the extract obtained for the determination of total phenolic compounds was incubated in dark for 48 h at $4 \text{ } ^\circ\text{C}$ for chlorophylls A, B, and totals (C_A , C_B and C_T , respectively) analysis. The sample was centrifuged at 4 000 rpm and the supernatant absorbance was measured at 647 and 664 nm. The concentration of chlorophyll A, B and Total (mg L^{-1}) was determined with the following equations (Gandolfo-Wiederhold, 2008) and reported in mg g^{-1} peel:

$$C_A = 12.64 \text{ Abs}_{664 \text{ nm}} - 2.99 \text{ Abs}_{647 \text{ nm}}$$

$$C_B = -5.60 \text{ Abs}_{664 \text{ nm}} + 23.26 \text{ Abs}_{647 \text{ nm}}$$

$$C_T = 7.04 \text{ Abs}_{664 \text{ nm}} + 20.27 \text{ Abs}_{647 \text{ nm}}$$

Statistical analysis. A factorial experiment 2×2 , water management (irrigated and non-irrigated) and fruit cover (covered and uncovered) was used. The size of the fruit, according to weight, length and diameter, thus concentration of phytochemicals were subjected to analysis of variance and mean test (Duncan, $p < 0.05$) with SAS.

y 664 nm. La concentración de clorofilas A, B y totales (mg L^{-1}), se determinó con las siguientes ecuaciones (Gandolfo-Wiederhold, 2008) y se reportan en mg g^{-1} piel:

$$C_A = 12.64 \text{ Abs}_{664 \text{ nm}} - 2.99 \text{ Abs}_{647 \text{ nm}}$$

$$C_B = -5.60 \text{ Abs}_{664 \text{ nm}} + 23.26 \text{ Abs}_{647 \text{ nm}}$$

$$C_T = 7.04 \text{ Abs}_{664 \text{ nm}} + 20.27 \text{ Abs}_{647 \text{ nm}}$$

Análisis estadístico. Se empleó un diseño experimental factorial 2×2 , manejo del agua (con riego y sin riego) y cobertura del fruto (cubiertos y descubiertos). El tamaño del fruto, según su peso, longitud y diámetro, así como la concentración de fitoquímicos se sometió a análisis de varianza y prueba de medias (Duncan, $p < 0.05$) con el paquete estadístico SAS.

Resultados

Climatología

Del análisis climatológico de los años 1981-2010, se observó que la temperatura media mensual es superior a 15°C ; el periodo más cálido ocurre entre mayo y septiembre con una T_{max} media superior a 26°C ; el periodo frío (diciembre a marzo) presenta T_{min} media menor a 10°C . Durante junio-septiembre se precipita 86% de la lluvia (1 100 mm) y el mes más lluvioso supera 400 mm (julio). Las medias anuales de temperatura máxima y mínima son 27.1 y 13.6°C , respectivamente, mientras que la precipitación anual es de 1 286 mm (Figura 1).

Meteorología del periodo de estudio (mayo-septiembre 2014)

Se cuantificaron los días que superaron la temperatura media histórica (T_{max}) y los días con temperatura inferior a la media histórica (T_{min}). En el huerto con riego se acumularon 37 días con temperatura superior a la media, mientras que en el huerto sin riego fueron 85 días. En contraste, los días acumulados en los que la temperatura fue inferior a la temperatura media fueron 47 y 17 días para los huertos con y sin riego, respectivamente. El huerto sin riego fue más caliente (mayor cantidad de días cálidos y menor en días frescos) que el que tuvo riego. La comparación entre huertos mostró que donde hubo riego se acumularon mensualmente menos días con T_{max} superior a la media y un mayor número de días con T_{min} menor a la media; mientras que M_{max}

Results

Climatology

From the climatological analysis of the period 1981-2010, it was observed that the monthly average temperature is above 15°C ; the warmest period occurs between May and September with an average T_{max} above 26°C ; the cold period (December to March) has an average T_{min} lower than 10°C . From June to September 86% of the rain is present (1 100 mm) and the wettest month exceeds 400 mm (July). The annual average maximum and minimum temperature are 27.1 and 13.6°C , respectively, while the annual rainfall is 1 286 mm (Figure 1).

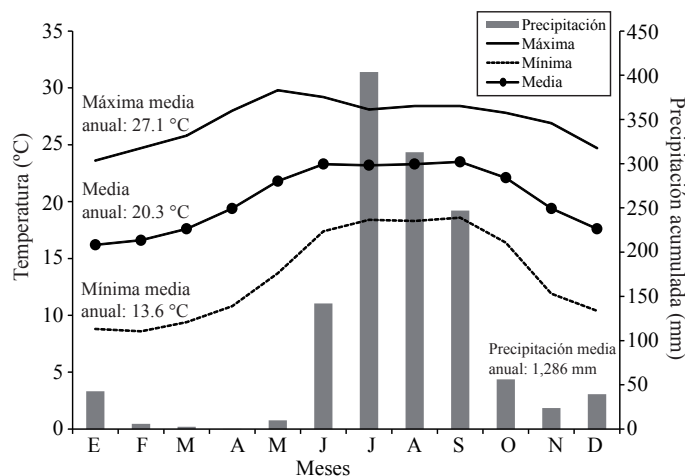


Figura 1. Climograma de promedios mensuales de precipitación, temperatura máxima y mínima de la zona de estudio durante 1981-2010.

Figure 1. Climograph for average monthly precipitation, maximum and minimum temperature in the study area from 1981 to 2010.

Meteorology of the study period (May-September 2014)

The days above the historical average temperature (T_{max}) and days below the historical average (T_{min}) temperature were quantified. Orchards with irrigation accumulated 37 days with temperatures above average, while in orchards without irrigation were 85 days. In contrast, accumulated days in which temperature was below average temperature were 47 and 17 days for orchards with and without irrigation, respectively. The orchard without irrigation was hotter (greater amount of warm days and less cool days) than those without irrigation. The comparison showed that orchards with irrigation accumulated monthly fewer days with T_{max} above average and a higher number of days with T_{min} below average; while M_{max} was

fue superior en el huerto sin riego, fluctuando entre 0.7 y 1.8 °C; en Mmin el huerto con riego fue el más fresco, con diferencias entre -0.2 y -1.5 °C. En el huerto sin riego se acumularon 2141.6 unidades calor, siendo mayores a las del huerto con riego (1990.7). Cuadro 1.

higher in orchards without irrigation, ranging between 0.7 and 1.8 °C; Mmin in orchard with irrigation was the coolest, with differences between -0.2 and -1.5 °C. In orchard without irrigation accumulated 2 141.6 heat units, being higher than orchard with irrigation (1990.7) Table 1.

Cuadro 1. Días con temperatura mayor a la media mensual, valores extremos y unidades calor acumuladas.

Table 1. Days with temperature higher than monthly average, extreme values and accumulated heat units.

Variable meteorológica	Huerto con riego (1 200 msnm)					Huerto sin riego (950 msnm)				
	M	J	J	A	S	M	J	J	A	S
Tmax (días)	11	2	15	4	5	20	4	25	19	17
Tmin (días)	0	6	13	15	13	0	1	3	7	6
Mmax (°C)	31.6	30.3	32.8	30.0	30.6	33.4	31.6	33.8	31.8	31.3
Mmin (°C)	15.4	16.6	15.7	16.1	16.6	15.6	17.4	17.0	17.6	17.4
UCA	421.2	384.4	406.7	392.6	385.8	444.2	401.3	448.0	431.4	416.7

Tamaño del fruto

En el huerto con riego, el peso, longitud y diámetro del fruto fueron mayores en los frutos descubiertos que en los cubiertos con papel. En el caso del huerto sin riego, el tamaño del fruto no fue afectado por la cobertura con papel (Cuadro 2).

Fruit size

In orchard with irrigation, weight, length and diameter, were higher in uncovered than in covered fruits. For the orchard without irrigation, fruit size was not affected by fruit covered with paper (Table 2).

Cuadro 2. Tamaño del fruto de aguacate 'Hass' con diferente grado de exposición a la luz y manejo del agua.

Table 2. Fruit size of 'Hass' avocado with different degrees of exposure to light and water management.

Tipo de fruto	Con riego			Sin riego		
	Peso (g)	Longitud (mm)	Diámetro (mm)	Peso (g)	Longitud (mm)	Diámetro (mm)
Descubiertos	195.83 a ^z	93.81 a	64.46 a	181.16 a	89.60 a	62.98 a
Cubiertos	160.17 b	82.37 b	59.56 b	185.25 a	89.76 a	60.95 a

^zMedias con la misma letra en una columna no presentan diferencia significativa, de acuerdo con la prueba de Duncan, $p \leq 0.05$.

El manejo del agua afectó el tamaño de los frutos descubiertos. Los frutos del huerto con riego presentaron mayor peso y longitud que los del huerto sin riego. Sin embargo, el diámetro del fruto no fue afectado por el manejo del agua (Cuadro 3).

Water management affected the size of uncovered fruits. The fruits of the orchard with irrigation had higher weight and length than orchard without irrigation. However, fruit diameter was not affected by water management (Table 3).

Cuadro 3. Tamaño del fruto de aguacate 'Hass' descubierto y según el manejo del agua.

Table 3. Fruit size of uncovered 'Hass' avocado according to water management.

Tipo de huerto	Peso (g)	Longitud (mm)	Diámetro (mm)
Con riego	195.83 a ^z	93.81 a	64.46 a
Sin riego	181.16 b	89.56 b	62.98 a

^zMedias con la misma letra en una columna no presentan diferencia significativa, de acuerdo con la prueba de Duncan, $p \leq 0.05$.

Compuestos fitoquímicos

En frutos descubiertos, tanto del huerto con riego como sin él, se presentó una mayor concentración de compuestos fenólicos totales, así como de las clorofilas A, B y totales en la piel (Cuadro 4). Por otra parte, en frutos descubiertos, el manejo del agua no afectó la concentración de los compuestos fitoquímicos analizados (Cuadro 5).

Phytochemicals

In uncovered fruits both irrigated and not irrigated, showed a higher concentration of total phenolic compounds as well as chlorophyll A, B and total in peel (Table 4); moreover, in uncovered fruits, water management did not affect the concentration of phytochemical compounds analyzed (Table 5).

Cuadro 4. Concentración de fitoquímicos en la piel de frutos de aguacate ‘Hass’ con diferente grado de exposición a la luz y manejo del agua.

Table 4. Concentration of phytochemicals in fruit peel of ‘Hass’ avocado with different degrees of exposure to light and water management.

Tipo de fruto	Con riego				Sin riego			
	CFT ^z	C _A ^y	C _B ^x	C _T ^w	CFT	C _A	C _B	C _T
Descubiertos	6.10 a ^v	0.052 a	0.030 a	0.086 a	6.42 a	0.050 a	0.024 a	0.081 a
Cubiertos	3.64 b	0.018 b	0.010 b	0.030 b	3.73 b	0.017 b	0.011 b	0.031 b

^zCFT= compuestos fenólicos totales, mg equivalentes de ácido gálico (EAG) g⁻¹ piel. ^yC_A= clorofila A, mg g⁻¹ piel; ^xC_B= clorofila B, mg g⁻¹ piel; ^wC_T= clorofila total, mg g⁻¹ piel; ^vMedias con la misma letra en una columna no presentan diferencia significativa, de acuerdo con la prueba de Duncan, $p \leq 0.05$.

Cuadro 5. Concentración de fitoquímicos en la piel de frutos de aguacate ‘Hass’ expuestos a la luz y con diferente manejo del agua.

Table 5. Concentration of phytochemicals in fruit peel of ‘Hass’ avocado exposed to light and with different water management.

Tipo de huerto	CFT ^z	C _A ^y	C _B ^x	C _T ^w
Con riego	6.10 a ^v	0.052 a	0.030 a	0.086 a
Sin riego	6.42 a	0.050 a	0.024 a	0.081 a

^zCFT= compuestos fenólicos totales, mg equivalentes de ácido gálico (EAG) g⁻¹ piel; ^yC_A= clorofila A, mg g⁻¹ piel; ^xC_B= clorofila B, mg g⁻¹ piel; ^wC_T= clorofila total, mg g⁻¹ piel. ^vMedias con la misma letra en una columna no presentan diferencia significativa, de acuerdo con la prueba de Duncan, $p \leq 0.05$.

Según el análisis factorial, el grado de exposición a la luz fue el factor con alta significancia estadística ($p < 0.01$) para todas las variables analizadas en el modelo. La interacción entre ambos factores, exposición a la luz y manejo del agua, solo resultó significativa para el peso y longitud de los frutos (Cuadro 6).

According to the factorial analysis, the degree of exposure to light was the factor with high statistical significance ($p < 0.01$) for all the analyzed variables in the model. The interaction between both factors, exposure to light and water management, was significant only for fruit weight and fruit length (Table 6).

Cuadro 6. Cuadrados medios del modelo factorial de manejo del agua y cobertura del fruto.

Table 6. Mean squares of the factorial model for water management and fruit coverage.

FV	GL	Peso	Longitud	Diámetro	CFT	C _A	C _B	C _T
MA	1	4.79 ^{ns}	0.76 ^{ns}	2.43 ^{ns}	1.32 ^{ns}	1.2X10 ^{-7 ns}	1.4X10 ^{-4 ns}	7.0X10 ^{-5 ns}
CF	1	3114.88 [*]	400.56 ^{**}	154.73 ^{**}	83.84 ^{**}	0.02 ^{**}	0.003 ^{**}	0.036 ^{**}
MA*CF	1	5170.68 ^{**}	440.40 ^{**}	27.26 ^{ns}	0.18 ^{ns}	3.9X10 ^{-6 ns}	1.6X10 ^{-4 ns}	1.0X10 ^{-4 ns}

^{**}Significativo a $p < 0.01$; ^{*} Significativo a $p < 0.05$. FV= fuente de variación; GL= grados de libertad; MA= manejo del agua; CF= cobertura del fruto.

Discusión

Las condiciones climáticas de los sitios donde se desarrolló el presente trabajo coinciden con la descripción de temperatura del clima tipo Semicálido descrito por García (1964), donde la media anual y la del mes más cálido superan el umbral térmico de 18 °C y 22 °C, respectivamente. Estas condiciones climáticas coinciden con trabajos previos en la región de estudio, donde se determinó la presencia de días frío favorables para el desarrollo reproductivo del aguacate 'Hass' (Salazar-García *et al.*, 2007; Salazar-García *et al.*, 2009).

La condición de humedad afectó el tamaño del fruto ya que el huerto con riego produjo frutos con mayor peso y longitud que el huerto sin riego. Esto difiere con lo encontrado por Salazar-García *et al.* (2011) en Michoacán donde no hubo diferencia en el peso de frutos de 'Hass' provenientes de huertos con riego y sin riego. Esta divergencia de resultados podría ser atribuida a que en Michoacán los frutos se desarrollan en climas con mayor precipitación acumulada anual y una más amplia distribución de la lluvia durante el año, lo que podría ocasionar un menor estrés hídrico en el cultivo.

La concentración de compuestos fenólicos totales en la piel de frutos descubiertos, resultó más baja que lo reportado por Wang *et al.* (2010), quienes realizaron la extracción de fitoquímicos con una mezcla de acetona:agua:ácido acético (70:29.7:0.3, v/v/v), lo cual podría explicar la diferencia entre sus resultados y los de esta investigación en la que el solvente de extracción fue una mezcla acetona: agua (70:10 v/v). Ciertos grupos de fenólicos, tales como los flavonoides, actúan como mecanismo de protección contra la radiación ultravioleta (Cheynier *et al.*, 2013), de ahí que los frutos expuestos a la luz hayan sido los que presentaron una concentración mayor de fenólicos totales. En uva (*Vitis vinifera*), los racimos descubiertos presentaron contenidos más altos de CFT, comparado con frutos que fueron cubiertos con redes que retenían parte de la luminosidad (Leguizamón-M *et al.*, 2008).

El contenido de clorofilas, menor en los frutos cubiertos, evidenció la condición de estrés a la que fueron sometidos dichos frutos. En los frutos descubiertos el contenido de clorofilas A, B y totales, fue más alto que lo encontrado por Wang *et al.* (2010), en frutos de 'Hass', quienes para estos pigmentos reportaron 0.019, 0.010 y 0.029 mg g⁻¹ piel, respectivamente; esta diferencia puede explicarse debido a que Wang *et al.* (2010) analizaron frutos en madurez

Discussion

Climatic conditions of the places where this work was developed match the description of a semi-warm climate described by Garcia (1964), where the annual average and the warmest month exceeds the thermal threshold of 18 °C and 22 °C, respectively. These climatic conditions are consistent with previous work in the study region, where it was determined the presence of favorable chilling for reproductive development of 'Hass' avocado (Salazar-García *et al.*, 2007; Salazar-García *et al.*, 2009).

Water management affected fruit size as the orchard with irrigation produced heavier and longer fruits than the orchard without irrigation. This differs to that found by Salazar-García *et al.* (2011) in Michoacan where there was no difference in fruit weight of 'Hass' from orchards with irrigation and without irrigation. This divergence of results could be attributed that in Michoacan fruits grow in climates with higher annual accumulated rainfall and a wider distribution of rainfall during the year, which could result in lower water stress in the crop.

The concentration of total phenolic compounds in peel of uncovered fruit was lower than that reported by Wang *et al.* (2010), who conducted the phytochemical extraction with a mixture of acetone: water: acetic acid (70: 29.7: 0.3, v / v / v), which could explain the difference between their results and those in this research as the extractant was acetone: water (70:10 v / v). Certain phenolic groups such as flavonoids, act as a protective mechanism against ultraviolet radiation (Cheynier *et al.*, 2013), hence the fruits exposed to light have been those who had a higher concentration of total phenolic compounds. In grape (*Vitis vinifera*), uncovered clusters had higher contents of total phenolic compounds, compared with fruits that were covered with nets blocking part of the light (Leguizamón-M *et al.*, 2008).

The lowest chlorophyll content was in covered fruits, showed the stress condition to which fruits were subjected. In uncovered fruits chlorophyll content A, B and total, was higher than that found by Wang *et al.* (2010), in 'Hass', who reported pigments of 0.019, 0.010 and 0.029 mg g⁻¹ peel, respectively; this difference can be explained due to Wang *et al.* (2010) analyzed mature fruit ready for consumption, while in the present study the analysis was performed at physiological maturity. Cox *et al.* (2004) reported for 'Hass' a reduction in chlorophyll content between fruits with forest green and dark color.

de consumo, mientras que en la presente investigación el análisis se realizó en madurez fisiológica. Cox *et al.* (2004), reportaron en 'Hass' una disminución en el contenido de clorofilas entre los frutos de color verde bosque y los de color oscuro.

El contenido de metabolitos secundarios suele presentar variaciones estacionales (Scogings *et al.*, 2015), lo que podría explicar las diferencias entre los resultados de este estudio y los previamente mencionados. Al obtener la relación clorofila A/B en frutos descubiertos (1.73 y 2.08, huerto con y sin riego, respectivamente) y en frutos cubiertos (1.80 y 1.54, huerto con y sin riego, respectivamente) se encontró que fue menor en estos últimos lo cual fue similar a lo encontrado en pino (*Pinus pseudostrubus*) y asociado a una disminución en la cantidad de luz (Cambrón-Sandoval *et al.*, 2011).

Conclusiones

El manejo de agua en huertos de aguacate 'Hass' no modificó el contenido de fitoquímicos en la piel de los frutos. Respecto al grado de exposición a la radiación solar, los frutos descubiertos presentaron una concentración mayor de compuestos fenólicos totales y clorofilas, comparados con aquellos que se sometieron a estrés por falta de luz. Como la variación en la radiación solar incidente es un agente forzante del cambio climático, este factor deberá ser considerado al analizar la producción de fitoquímicos en los cultivos.

Agradecimientos

Sereconoce el financiamiento del INIFAPy de la Universidad Autónoma de Nayarit. Se agradece al Sr. Bernardo Parra por facilitar su huerto y proporcionar los frutos para esta investigación.

Literatura citada

Álvarez-Bravo, A. y Salazar-García, S. 2015. Validación de un modelo de predicción del desarrollo floral del aguacate 'Hass' en Michoacán, México. *In*: VIII Congreso mundial de la palta 2015, Lima, Perú. 380-385 pp.

The content of secondary metabolites usually has seasonal variations (Scogings *et al.*, 2015), which could explain the differences between the results of this study and the previously mentioned. By obtaining chlorophyll A / B ratio in uncovered fruits (1.73 and 2.08, orchard with and without irrigation, respectively) and in covered fruits (1.80 and 1.54, orchard with and without irrigation, respectively) was found that it was lower in the latter which was similar to that found in pine (*Pinus pseudostrubus*) and associated with a decrease in the amount of light (Cambrón-Sandoval *et al.*, 2011).

Conclusions

Water management in 'Hass' avocado orchards did not modify the content of phytochemicals in peel. Regarding to the degree of exposure to solar radiation, uncovered fruits had a higher concentration of total phenolic compounds and chlorophyll, compared with those subjected to lack of light stress. As variation in solar radiation is a forcing agent of climate change, this factor should be considered when analyzing the production of phytochemicals in crops.

End of the English version



- Ashton, O. B. O.; Wong, M.; McGhie, T. K.; Vather, R.; Wang, Y. and Requejo-Jackman, C. 2006. Pigments in avocado tissue and oil. United States of America. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54(26):10151-10158.
- Balasundram, N.; Sundram, K. and Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. United Kingdom. *Food Chemistry*. 99(1):191-203.
- Björkman, M.; Klingen, I.; Birch, A. N. E.; Bones, A. M.; Bruce, T. J. A.; Johansen, T. J.; Meadow, R.; Mølmann, J.; Seljåsen, R.; Smart, L. E. and Stewart, D. 2011. Phytochemicals of *Brassicaceae* in plant protection and human health - influences of climate, environment and agronomic practice. United Kingdom. *Phytochemistry*. 72:538-556.
- Cambrón-Sandoval, V. H.; España-Boquera, M. L.; Sánchez-Vargas, N. M.; Sáenz-Romero, C.; Vargas-Hernández, J. J. y Herreras-Diego, Y. 2011. Producción de clorofilas en *Pinus pseudostrubus* en etapas juveniles bajo diferentes ambientes de desarrollo. México. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 17(2):253-260.
- Cheyrier, V.; Comte, G.; Davies, K. M.; Lattanzio, V. and Martens, S. 2013. Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. United Kingdom. *Plant Physiology and Biochemistry*. 72:1-20.

- Cox, K. A.; McGhie, T. K.; White, A. and Woolf, A. B. 2004. Skin colour and pigment changes during ripening of 'Hass' avocado fruit. United States of America. *Postharvest Biology and Technology*. 31:287-294.
- Gandolfo-Wiederhold, S. P. 2008. Factores ecofisiológicos relacionados con el crecimiento vegetativo, floración y desarrollo del fruto del aguacate. Universidad de Valencia. España. Tesis doctoral. 211 p.
- García, E. 2004. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Universidad Autónoma de México. Cd. de México, D.F. México. Serie Libros Núm. 6. Instituto de Geografía. 98 p.
- Leguizamón-M, G. D. V.; González-León, A.; Sotelo-Mundo, R. R.; Islas-Osuna, M. A.; García-Robles, J. M.; García Orozco, K.; Carvallo, T. y Báez-Sañudo, R. 2008. Efecto del sombreado de racimos sobre el color y la actividad antioxidante en uvas de mesa (*Vitis vinifera* L.) México. *Revista Iberoamericana de Postcosecha*. 9(2):138-147.
- Donetti, M. and Terry, L. A. 2012. Investigation of skin colour changes as non-destructive parameter of fruit ripeness of imported 'Hass' avocado fruit. Sweden. *Acta Horticulturae*. 945:189-196.
- Rakic, T.; Gajic, G.; Lazarevic, M. and Stevanovic, B. 2015. Effects of different light intensities, CO₂ concentrations, temperatures and drought stress on photosynthetic activity in two paleoendemic resurrection plant species *Ramonda serbica* and *R. nathaliae*. United Kingdom. *Environmental and Experimental Botany*. 109:63-72.
- Ouzounis, T.; Parjikolaie, B. R.; Fretté, X.; Rosenqvist, E. and Ottosen, C. O. 2015. Predawn and high intensity application of supplemental blue light decreases the quantum yield of PSII and enhances the amount of phenolic acids, flavonoids, and pigments in *Lactuca sativa*. Sweden. *Frontiers in Plant Science*. 6:1-14.
- Pielke, R. A.; Adegoke, J. O.; Chase, T. N.; Marshall, C. H.; Matsui, T. and Niyogi, D. 2007. A new paradigm for assessing the role of agriculture in the climate system and in climate change. United Kingdom. *Agricultural and Forest Meteorology*. 142:234-254.
- Rodríguez-Carpena, J. G.; Morcuende, D. and Estévez, M. 2011. Avocado by-products as inhibitors of color deterioration and lipid and protein oxidation in raw porcine patties subjected to chilled storage. United States of America. *Meat Science*. 89:166-73.
- Ruiz, C. J. A.; Medina, G. G.; González, A. I. J.; Flores, L. G.; Ramírez, O. G.; Ortiz, T. C.; Byerly, M. K. F. y Martínez, P. R. A. 2013. Requerimientos agroecológicos de cultivos. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)-CIRPAC-Campo Experimental Centro Altos de Jalisco. Segunda edición. Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México. INIFAP. Libro técnico Núm. 3. 564 p.
- Salazar-García, S.; Cossio-Vargas, L. E.; González-Durán, I. J. L. y Lovatt, C. J. 2007. Desarrollo floral del aguacate 'Hass' en clima semicálido. Parte II. Generación y validación de modelos de predicción del desarrollo floral. México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 13:93-101.
- Salazar-García, S.; Cossio-Vargas, L. E. y González-Durán, I. J. L. 2009. Validación de modelos de predicción del desarrollo floral del aguacate 'Hass' desarrollados para Nayarit, en varios climas de Michoacán. México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 3:281-288.
- Salazar-García, S.; González-Durán, I. J. L. y Tapia-Vargas, L. M. 2011. Influencia del clima, humedad del suelo y época de floración sobre la biomasa y composición nutrimental de frutos de aguacate 'Hass' en Michoacán, México. México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 17(2):183-194.
- Singh, D. R.; Singh, S. and Dam-Roy, S. 2015. Climate change: resilient island horticulture. *In: climate dynamics in horticultural science. Volume 2: impact, adaptation and mitigation*. Apple Academic Press. Oakville, ON. Canada. 117 p.
- Scogings, P. F.; Hattas, D.; Skarpe, C.; Hjältén, J.; Dziba, L.; Zobolo, A. and Rooke, T. 2015. Seasonal variations in nutrients and secondary metabolites in semi-arid savannas depend on years and species. United Kingdom. *Journal of Arid Environments*. 114:54-61.
- Soong, Y. Y. and Barlow, P. J. 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. United Kingdom. *Food Chemistry*. 88:411-417.
- Wang, W.; Bostic, T. R. and Gu, L. 2010. Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. United Kingdom. *Food Chemistry*. 122(4):1193-1198.