



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas

EFFECTO DE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA Y DEL SISTEMA DE RIEGO

EN LA CALIDAD DEL FRUTO DE FRESA

(*Fragaria x ananassa* var. Aromas)

Tesis que presenta

IBQ. Laura Alejandra Ojeda Real

Para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Biología Experimental

Morelia, Michoacán, Agosto 2006

**Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Bioquímica Ecológica
del Instituto de Investigaciones Químico – Biológicas de la Universidad Michoacana de
San Nicolás de Hidalgo, bajo la asesoría de la Dra. Lourdes I. Macías Rodríguez
y la coasesoría del Dr. Oscar A. Grageda Cabrera.**

SINODALES

D.C. Lourdes I. Macías Rodríguez

D.C. Oscar A. Grageda Cabrera

D.C. Rafael Salgado Garciglia

D.C. Philippe Lobit

AGRADECIMIENTOS

- Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la Beca-Crédito que me otorgó por 24 meses para poder realizar mis estudios de Maestría.
- Agradezco a Fondos Mixtos CONACYT/Gobierno del Estado de Michoacán por el financiamiento del presente proyecto con clave MICH-2003-C01-12028.
- Quiero expresar mis más sincero agradecimiento a mi asesora, la D.C Lourdes Macías Rodríguez por su paciencia y apoyo académico, económico y moral.

CONTENIDO

| | Pág. |
|--|------|
| 1. Introducción | 1 |
| 2. Antecedentes | 3 |
| 2.1 Panorama general de la fresa en México y en el mundo | 3 |
| 2.2 Generalidades | 5 |
| 2.4 Factores que influyen en el desarrollo vegetativo de la planta de fresa y en la calidad del fruto. | 6 |
| 2.4.1 Factores ambientales | 6 |
| 2.4.2 Nutrición mineral | 10 |
| 2.4.3 Interacción del metabolismo del carbono y nitrógeno | 13 |
| 2.5 Sistemas de cultivo para la fresa | 16 |
| 2.5.1 Fechas de plantación | 17 |
| 2.5.4 Sistemas de riego | 19 |
| 2.5.5 Aplicación de fertilizantes | 20 |
| 2.5.6 Sistema de cultivo en invernadero | 20 |
| 2.6 Compuestos que determinan la calidad sensorial de la fresa. | 21 |
| 2.6.1 Compuestos no volátiles | 22 |
| 2.6.2 Compuestos volátiles | 26 |
| 3. Justificación del trabajo | 29 |
| 4. Hipótesis | 31 |
| 5. Objetivos | 31 |
| 5.1 Objetivo general | 31 |

| | Pág. |
|---|------|
| 5.2 Objetivos específicos | 31 |
| 6. Materiales y métodos | 32 |
| 6.1 Materiales | 32 |
| 6.1.1 Invernadero | 32 |
| 6.1.2 Campo | 33 |
| 6.2 Métodos | 34 |
| 6.2.1 Procedimiento general | 34 |
| 6.2.2 Determinación de carbohidratos, aminoácidos y ácidos orgánicos. | 36 |
| 6.2.3 Determinación de ácidos grasos | 39 |
| 6.2.4 Determinación de compuestos volátiles | 40 |
| 6.2.5 Análisis estadístico | 41 |
| 7. Resultados | 42 |
| 7.1 Resultados obtenidos en el fruto de fresa var. Aromas analizado en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica | 42 |
| 7.1.1 Carbohidratos | 42 |
| 7.1.2 Aminoácidos | 46 |
| 7.1.3 Ácidos orgánicos | 51 |
| 7.1.4 Ácidos grasos | 52 |
| 7.1.5 Compuestos volátiles | 55 |
| | |
| | |

| | Pág. |
|---|------|
| 7.2 Resultados obtenidos en el fruto de fresa var. Aromas analizado en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego. | 66 |
| 7.2.1 Carbohidratos | 66 |
| 7.2.2 Aminoácidos | 72 |
| 7.2.3 Ácidos orgánicos | 81 |
| 7.2.4 Ácidos grasos | 83 |
| 7.2.5 Compuestos volátiles | 87 |
| 8. Discusión | 104 |
| 8.1 Análisis de los resultados obtenidos en invernadero | 104 |
| 8.2 Análisis de los resultados obtenidos en campo | 107 |
| 9. Conclusiones | 112 |
| 10. Literatura citada | 113 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | Pág. |
|--|------|
| Tabla 1.Acumulación de los principales nutrimentos en los diferentes órganos de la planta de fresa variedad Elsanta. | 11 |
| Tabla 2.Estatus nutrimental de la planta de acuerdo a los niveles foliares de los elementos esenciales en fresa. | 13 |
| Tabla 3.Tratamientos de plantas de fresa establecidas en invernadero. | 33 |
| Tabla 4.Tratamientos de plantas de fresa establecidas en campo. | 34 |
| Tabla 5.Contenido de pentosas ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificadas en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. | 45 |
| Tabla 6.Contenido de otros carbohidratos ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. | 46 |
| Tabla 7.Contenido de aminoácidos esenciales ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. | 49 |
| Tabla 8.Contenido de aminoácidos no esenciales ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. | 51 |
| Tabla 9.Contenido de ácidos orgánicos ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. | 52 |
| Tabla 10.Contenido de ácidos grasos libres insaturados y saturados ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. | 54 |
| Tabla 11.Contenido de ácidos grasos ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. | 55 |
| | |

| | Pág. |
|--|------|
| Tabla 12. Contenido (%) de las principales familias de compuestos volátiles identificadas en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. | 56 |
| Tabla 13. Contenido (%) de otros compuestos volátiles identificadas en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. | 61 |
| Tabla 14. Contenido de pentosas ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificadas en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego. | 70 |
| Tabla 15. Contenido de otros carbohidratos ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivado en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego. | 72 |
| Tabla 16. Contenido de aminoácidos libres totales ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego. | 74 |
| Tabla 17. Contenido de aminoácidos esenciales ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego. | 76 |
| Tabla 18. Contenido de aminoácidos no esenciales ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego. | 79 |
| Tabla 19. Contenido de ácidos orgánicos ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego: goteo y gravedad. | 82 |
| Tabla 20. Contenido de ácidos grasos insaturados y saturados ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego. | 85 |
| | |
| | |
| | |

| | Pág. |
|---|------|
| Tabla 21. Contenido de ácidos grasos ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego. | 86 |
| Tabla 22. Contenido (%) de las principales familias de compuestos volátiles identificadas en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego. | 89 |
| Tabla 23. Contenido (%) de otros compuestos volátiles identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego. | 96 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | Pág. |
|--|------|
| Figura 1. Interacción entre el metabolismo del carbono y nitrógeno. | 14 |
| Figura 2. Síntesis de ésteres a partir del aminoácido isoleucina. | 23 |
| Figura 3. Vía metabólica de la oxidación enzimática de los ácidos grasos insaturados | 25 |
| Figura 4. Dispositivo de microextracción en fase sólida. | 28 |
| Figura 5. Esquema general del procedimiento realizado en este trabajo. | 35 |
| Figura 6. Contenido de carbohidratos libres totales en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. | 43 |
| Figura 7. Contenido de fructosa (A) y glucosa (B) en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. | 44 |
| Figura 8. Contenido de aminoácidos libres totales en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. | 47 |
| Figura 9. Contenido de aminoácidos esenciales totales en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. | 48 |
| Figura 10. Contenido de aminoácidos precursores de compuestos volátiles en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. | 50 |
| Figura 11. Contenido de ácidos grasos libres totales en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. | 53 |
| Figura 12. Contenido de butil butanoato y hexil butanoato como biomarcadores de calidad aromática en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. | 58 |
| | |

| | Pág. |
|--|------|
| Figura 13. Contenido de Hexanal y Ácido butanoico como biomarcadores de madurez identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. | 59 |
| Figura 14. Contenido de carbohidratos libres totales en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego. | 67 |
| Figura 15. Contenido de fructosa (A) y glucosa (B) en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego. | 68 |
| Figura 16. Contenido de aminoácidos esenciales libres totales (isoleucina, leucina, fenilalanina y treonina) en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego. | 75 |
| Figura 17. Contenido de aminoácidos precursores de compuestos volátiles en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego. | 77 |
| Figura 18. Contenido de ácidos grasos libres totales en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego. | 84 |
| Figura 19. Contenido de Butil hexanoato y Hexil hexanoato como biomarcadores de calidad aromática, identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego. | 92 |
| Figura 20. Contenido de Ácido butanoico y hexanal como biomarcadores de madurez identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego. | 94 |
| Figura 21. Acumulación de los principales biomarcadores de calidad sensorial y nutricional en frutos cosechados en invernadero. | 106 |
| Figura 22. Acumulación de los principales biomarcadores de calidad sensorial y nutricional en frutos cosechados en campo | 109 |

1. INTRODUCCIÓN

La fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) es una de las frutas más populares a nivel mundial debido a su sabor único. La calidad sensorial de la fresa está basada principalmente por su apariencia (tamaño, forma, color, entre otros) y el balance apropiado de compuestos volátiles y no volátiles presentes en el fruto; de estos últimos los carbohidratos, aminoácidos, los ácidos orgánicos y los lípidos son considerados como los compuestos responsables del sabor y además son precursores de los compuestos que denotan el aroma en la fresa (Shamaila *et al.*, 1992; Zabetakis y Holden, 1997). Con lo que respecta a los compuestos volátiles, éstos participan con el 90% de la apreciación global del sabor de la fresa aun cuando solo constituyen el 0.01% del peso fresco del fruto.

Actualmente México ocupa el quinto lugar en producción y tercer lugar como país exportador de este fruto, donde el Estado de Michoacán participa con el 80% de la producción nacional. La creciente demanda de este fruto ha originado la necesidad de incrementar el rendimiento y la calidad mediante el aumento en las dosis de los principales insumos que imitan la producción: fertilizantes nitrogenados y agua.

Monroy y col. (2002), revelaron la importancia del nitrógeno en el cultivo de la fresa, ya que es esencial para el buen crecimiento y desarrollo de la planta, principalmente en lo correspondiente a las etapas vegetativa y de floración. Las dosis de fertilización nitrogenada recomendada para este cultivo, oscilan entre 110 y 450 kg·ha⁻¹ (Kolb, 1986), pero en Michoacán se llegan a aplicar dosis superiores a 600 kg de N·ha⁻¹ con la finalidad de incrementar el rendimiento, lo que genera un impacto ambiental negativo ya que la toma de nitrógeno por el cultivo de fresa es menor al 30% de las dosis aplicadas en la actualidad y el nitrógeno no asimilado contamina la atmósfera y el agua.

En México, debido a la falta de inversión en la infraestructura para la aplicación de agua en el cultivo de la fresa, la forma tradicional de riego es por gravedad, cuya eficiencia oscila en un rango de 50 a 60%, ocasionando además del desperdicio de agua, salinización del suelo no se drena adecuadamente (Doorenbos y Pruitt, 1986).

Estos problemas han impulsado nuevas investigaciones agronómicas con el objetivo de optimizar la eficiencia de la producción de fresa mediante nuevas formas de suministro, tiempos adecuados de aplicación y concentración de fertilizantes, además de sustituir los sistemas de riego tradicionales como el riego por gravedad por sistemas de goteo. Sin embargo, estos trabajos han fijado sus prioridades en mejorar la apariencia y resistencia del fruto al daño mecánico ocasionado por el manejo poscosecha sin tomar en cuenta si los frutos cumplen con las expectativas sensoriales de los consumidores.

Es por esta razón que el objetivo del presente trabajo fue determinar la influencia de la fertilización nítrica y sistemas de riego sobre el contenido de los compuestos determinantes de la calidad gustativa del fruto, los cuales fueron colectados de sistemas de cultivo en campo e invernadero. A este material se le realizaron análisis cualitativos y cuantitativos de compuestos no volátiles como los carbohidratos, aminoácidos, ácidos orgánicos y lípidos libres utilizando la técnica de cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM) y también se realizó la determinación de los compuestos volátiles empleando la técnica de microextracción en fase sólida (SPME) y CG-EM.

2. ANTECEDENTES

2.1. Panorama de la fresa en México y el mundo

El amplio uso de la fresa en el mundo, bien como fruta de mesa o como materia prima para procesar, aumenta en la misma proporción que la expansión del cultivo, esto garantiza buenas cotizaciones para el futuro así que cualquier investigación que se enfoque hacia el mejoramiento del cultivo será de gran beneficio para productores, exportadores y consumidores.

En la última década, el área cosechada con fresa en el mundo pasó de 202,000 hectáreas en el año de 1994 a 230,000 hectáreas en el año 2001, sin embargo para el año 2004 la producción disminuyó un 10% aproximadamente, llegando a las 214,000 hectáreas; esta disminución se encuentra explicada, por un lado, en la disminución de las áreas cultivadas en países como Francia y México, y por el otro, en el aumento en su cultivo en algunos países como España, Italia y Polonia, los cuales dedicaron una mayor área entre 1998 y el 2001, producción que logró cubrir la demanda mundial de la fruta en un periodo de bajo rendimiento.

Siete países colectan el 55% del volumen mundial de la fresa donde Estados Unidos es el principal productor seguido de España, Corea, Japón, México, Italia y Rusia. Los Estados Unidos han presentado el mayor rendimiento en la producción de Fresa (47.94 t ha^{-1}), seguido por Marruecos (38.19 t ha^{-1}) y España (31.7 t ha^{-1}), esto teniendo en cuenta la proporción de área cultivada con respecto a su producción. En los últimos cinco años México ha aumentado el nivel de rendimiento a 28 t ha^{-1} , participando en la actualidad con el 5% de la producción

mundial, observado una contraposición con el caso de Polonia, país considerado por tradición uno de los principales productores de fresa, que aunque presenta la mayor área cosechada en el mundo su volumen de producción no ha crecido al mismo ritmo que sus cultivos traduciéndose en un bajo rendimiento (FAO, 2004).

En lo que respecta a la comercialización, los mayores importadores son Alemania, Francia, Canadá y los Estados Unidos los cuales concentran el 61% del total. En donde el primero participa con el 23%, el segundo con el 18%, el tercero con el 12%, y este último con el 8%. Esta demanda de fresa se concentra en el periodo comprendido entre los meses de Diciembre y Abril, lo que favorece a los países con climas cálidos para satisfacer la demanda de este fruto (FAO, 2003).

La mitad del total del comercio mundial de la fresa durante el 2004 fue cubierto por la producción de España (41%) y Estados Unidos (18%), seguido de México que ha participado con el 8% de las exportaciones (FAO, 2003).

La producción mexicana de fresa se encuentra cubierta cerca de un 60% por la región de Michoacán con un valor de casi 500,000,000 de pesos, seguida de los Estados de Baja California con el 26% y Guanajuato con el 11% (INEGI, 2005).

2.2. Generalidades

La fresa, cuyo nombre procede del latín *fragans*, fragante, es una rosácea del género *Fragaria* Linn, cuyas especies se encuentran difundidas por todas las zonas templadas y subtropicales (Branzanti, 1989). Al género pertenecen más de 150 especies algunas silvestres y otras cultivadas.

A principios del siglo XVI, las especies silvestres *F. virginiana* y *F. chiloensis*, originarias del nuevo continente fueron importadas a Europa y distribuidas en varios jardines botánicos y al estar en contacto se originó un híbrido, que es la fresa de frutos gruesos cultivada y actualmente es designada botánicamente como *Fragaria x ananassa* Duch. (Branzanti, 1989).

Esta fresa, por ser un híbrido se adapta a las más variadas condiciones climáticas, desde los climas tropicales y subtropicales, hasta los países escandinavos. El complejo origen de la especie y la facilidad con que se producen los cruzamientos explica la existencia de los diferentes variedades y la posibilidad de obtener mediante programas de mejoramiento genético diferentes tipos adaptados a los más variados fines y ambientes que les facilita a los productores la selección de acuerdo al mercado al que vaya dirigido, de hecho alrededor de cada seis años se introducen nuevas variedades como las introducidas por Estados Unidos de América en la última década: Aromas, Diamante, Seascape, Pacífico, Gaviota y Camarosa (Hancock, 1999).

Una de las variedades disponibles en el Estado de Michoacán es la Aromas, que fue introducida en 1997 por la UC Davis. Esta planta es de fotoperíodo neutro, de alta productividad, eficiencia de cosecha y tolerancia a la podredumbre y a la arañita blanca, buena calidad de fruto cuyo sabor es dulce y de buen tamaño.

La importancia económica de este cultivo recae en el fruto comestible, denominado botánicamente eterio, es un falso fruto formado por el receptáculo en el que están insertadas semillas llamadas aquenios que estimulan el engrosamiento del receptáculo el cual se transforma en el fruto. Los frutos pueden ser de varias formas según la variedad: cónicos, cónico-redondeados, esferoidales, oblatos o reniformes. La forma puede ser modificada por la influencia de diversos factores: la evolución del clima puede producir formas anómalas cuando algunos estigmas y ovarios hayan sido dañados por el frío; o cuando no se haya podido producir la completa polinización y una parte de los pisitilos no hayan sido fecundados y por lo tanto no existan aquenios. Las heladas, la humedad, los ataques parasitarios pueden influir en la regularidad de la forma del fruto (Branzanti, 1989).

2.3 Factores que influyen en el desarrollo vegetativo de la planta de fresa y en la calidad del fruto

El desarrollo de la planta de fresa está regulado por estrechas y complejas relaciones fisiológicas dadas por las condiciones ambientales y la disponibilidad de nutrimentos minerales. (Guttridge, 1985; Durner y Poling, 1988; Larson, 1994; Le Mière *et al.* 1998; Nestby *et al.*, 2005).

2.4.1 Factores ambientales

Los principales factores que influyen en el desarrollo de la planta de fresa son aquellos que determinan la tasa fotosintética de la planta, principalmente la temperatura, la luz y el agua (Hancock, 1999).

a) Temperatura

La fresa, debido a su amplia gama varietal, se adapta a los ambientes más diversos desde los subárticos a los subtropicales y a las zonas desérticas, cálidas, desde el nivel del mar a las elevadas altitudes de América central, incluso existen variedades adaptadas a climas fríos con características fisiológicas especiales como la de adoptar forma de “roseta y con hojas pequeñas que las hacen menos sensibles al frío.

Para favorecer el paso del estado vegetativo al productivo es necesario un cierto período de frío invernal, lo que se denomina “necesidades en horas frío” y es variable para cada cultivar. Las plantas sometidas al frío antes o después de la plantación, se desarrollan con más vigor, aumentan la producción de estolones y hojas y son más productivas que las que no están expuestas al frío invernal.

Entre los factores ambientales que condicionan la actividad vegetativa de la fresa tiene gran importancia el fotoperiodo (número de horas luz) al que todas las especies son más o menos sensibles e influye en todas las fases vegetativas y productivas de la planta sobre todo en la diferenciación de yemas y en las sucesivas floraciones que caracterizan a cada variedad.

En lo que respecta a la calidad del fruto se han reportado diferencias en el sabor de los frutos que son cultivados en diferentes lugares geográficos, también entre frutos cosechados en diferentes fechas e incluso entre los frutos de una misma cosecha, esto debido a que la acumulación de los compuestos que determinan el sabor dependen más de las condiciones ambientales durante el cultivo que del fondo genético de la planta (Shaw, 1988). Otra evidencia de la influencia del ambiente sobre la calidad es que el fruto producido a partir de plantas establecidas en verano tienen un mayor contenido de sólidos solubles y acidez titulable que aquellos de plantas establecidas en invierno (Kader, 1991).

También se ha observado que las condiciones ambientales son las que más influyen en la firmeza del fruto, al observar que los días soleados y noches frías favorecen el desarrollo de buen sabor, además de que ambientes muy húmedos y plantas con mucho follaje provoca en la fruta la pérdida de firmeza favoreciendo así la infección por hongos (Hancock, 1999).

b) Luz

En función de la sensibilidad de las diversas variedades al fotoperiodo se clasifican en: variedades de fotoperiodo largo, corto o neutro. Las plantas de fotoperiodo corto inician la diferenciación de yemas con periodos de luz de menos de 14 h. o cuando las temperaturas son menores de 15°C, la floración es en la primavera siguiente con una sola fructificación. (Darrow, 1936; Guttridge, 1985; Larson, 1994). Para variedades sensibles a fotoperiodo largo, la formación de yemas de flor se da con más de 12 horas luz y con temperaturas moderadas mientras que las plantas de fotoperiodo neutro producen coronas y flores aproximadamente a los 3 meses después de plantación, independientemente de la duración del periodo de luz y tienden a cumplir floraciones continuas hasta que la baja temperatura no pare su actividad vegetativa. Aunque la mayoría de las variedades son clasificadas dentro de las plantas de día corto o neutro, algunos genotipos denominados parcialmente reflorecientes tienen complejas interacciones entre la temperatura y el fotoperiodo que diferencian yemas de flor en dos periodos y dan una producción en primavera y otra en otoño (Yanagi y Oda, 1993).

Se sabe que la luz afecta la formación de color en las frutas debido a que reduce la síntesis de antocianinas, además provoca la disminución de acidez, contenido de ácido ascórbico, sólidos solubles, sin embargo favorece la firmeza del fruto. En el 2002, Watson y col. observaron que, los periodos de luz/sombra afectan significativamente la calidad del sabor

de la fresa puesto que la concentración de carbohidratos es inversamente proporcional al nivel de sombra a la que se sometió la producción de frutos.

c) Agua

Muchos aspectos del desarrollo de la planta son dependientes de la disponibilidad de agua en el medio, como la producción y expansión de las hojas, la producción de estolones, el desarrollo radical, el peso y el tamaño de los frutos (Hancock, 1999).

El grado al cual la planta responde ante el estrés hídrico por ausencia de agua depende mucho de la etapa de desarrollo de la planta. El tamaño de las hojas es el menos afectado durante la floración, sin embargo si el estrés hídrico es impuesto al inicio de esta etapa tiene un impacto negativo sobre el número de flores pero si es al final de la floración puede incrementar el número de flores.

Se ha observado que las plantas de fresa resistentes a sequía sufren ajustes osmóticos (Zhang y Archbold, 1993a), se incrementa la elasticidad de sus paredes celulares, el grosor de las hojas, la eficiencia en el uso del agua y la proporción raíz/brotes (Darrow, 1966; Giovanardi y Testolin, 1984; Renquist, 1984; Save, 1993). Las plantas de fresa sometidas a sequía generalmente tienen pocas hojas y son pequeñas, la conductancia estomática y transpiración disminuyen.

El ajuste osmótico en plantas del género *Fragaria* se da mediante la acumulación de carbohidratos, por ejemplo se ha reportado en plantas de *F. chiloensis* estresadas por sequía que el contenido de carbohidratos solubles totales aumenta de 1.4 a 2.4 veces con respecto a las no estresadas, mientras el contenido de almidón disminuye hasta un 6%. La glucosa y la fructosa fueron los principales carbohidratos involucrados en la osmoregulación con más del 50% del

potencial osmótico total y también el contenido general de aminoácidos libres totales se incrementó hasta 2.7 veces en respuesta al estrés, sin que en este estudio se detectara la prolina, que es el aminoácido por excelencia en procesos de ajuste osmótico (Zhang y Archbold, 1993b).

La tolerancia a sequía depende de la especie y se ha observado que *F. chiloensis* tienen una mayor resistencia que *F. virginiana* ya que para que *F. chiloensis* presente los síntomas típicos del estrés pasan de 6 a 10 días mientras que para *F. virginiana* los presenta a los 2 días después de iniciada la sequía, aunque en esta última especie la expansión foliar es menos afectada que en *F. chiloensis* (Zhang y Archbold, 1991). *F. x ananassa* tiene una respuesta intermedia entre la de sus especies parentales (Zhang y Archbold, 1993 a, b).

2.4.2 Nutrición mineral

La planta de fresa se desarrolla satisfactoriamente en todo tipo de suelo, es también tolerante a diferentes valores de pH, pero tiene mejor rendimiento en suelos con pH de 6 a 6.5 y es mejor cuando la planta se desarrolla en suelos fértiles con alto contenido de materia orgánica y bien drenados.

Al igual que todas las plantas, la fresa tiene requerimientos esenciales de nutrimentos, pero algunos son más limitantes que otros tal es el caso del N, P y K (May y Pritts, 1990) siendo el N el nutrimento que se ha relacionado estrechamente con la calidad del fruto (Nestby *et al.*, 2005).

Se ha encontrado que la mayor acumulación de los principales nutrimentos en la planta es durante la fructificación y casi todo el N, P, K, Mg, Zn y B disponibles se acumulan en el fruto (Nestby *et al.*, 2005). En 1993, Lieten y Misotten (1993) obtuvieron datos similares en

plantas de fresa variedad Elsanta cultivadas bajos sistemas de agricultura protegida (Tabla 1). En una base general, estos y otros estudios han dejado en claro que el exceso o deficiencia de un nutrimento o varios pueden tener efectos dramáticos principalmente en la calidad del fruto de cualquier variedad ya que los requerimientos entre ellas no son muy diferentes, aunque el tipo de suelo y el sistema de cultivo si pueden afectar la disponibilidad de los elementos.

Tabla 1. Acumulación de los principales nutrimentos en los diferentes órganos de la planta de fresa variedad Elsanta reportados por Lieten y Misotten (1993).

| Órgano | Acumulación (k·ha ⁻¹) | | | | | Acumulación (g·ha ⁻¹) | | | |
|--|-----------------------------------|------|-------|------|------|-----------------------------------|-----|------|-----|
| | N | P | K | Ca | Mg | Fe | Zn | Mn | B |
| Fruto | 62.3 | 7.7 | 110.9 | 3.8 | 3.5 | 404 | 43 | 191 | 69 |
| Otros órganos (Raíz, corona, follaje) | 63.2 | 10.0 | 47.9 | 52.3 | 10.3 | 4656 | 105 | 1247 | 256 |

El principal macronutrimento relacionado a calidad de fruto es el nitrógeno (Nestby *et al.*, 2005). El nitrógeno constituye entre el 1.5 al 5% del peso seco de las plantas. Este nutrimento se encuentra principalmente en la fracción orgánica del suelo. Aunque la atmósfera contiene alrededor del 79% de nitrógeno en comparación al suelo, este nitrógeno solo puede ser utilizado por plantas leguminosas, las cuales tienen una relación simbiótica con microorganismos del género *Rhizobium* en los nódulos de sus raíces, que le permite fijar nitrógeno atmosférico (Stanley, 1995).

En estudios realizados por varios autores en la planta de fresa se ha observado que la aplicación de fertilizantes nitrogenados reduce la firmeza del fruto ya que éstos promueven el desarrollo vegetativo y es en plantas de talla pequeña o media donde se producen los frutos con mayor firmeza (Miner *et al.*, 1997; Neuweiler, 1997); este efecto negativo sobre la firmeza del fruto disminuye la calidad, ya que aumenta la susceptibilidad al ataque de patógenos y daños mecánicos ocasionados por el manejo poscosecha de la fruta. Con lo que

respecta al tamaño, se ha observado que la aplicación de N lo incrementa pero puede conducir a malformaciones (Yoshida *et al.*, 1991; Burgess, 1997; Gariglio *et al.*, 2000).

El efecto que tiene el N sobre la acumulación de compuestos orgánicos en el fruto es inconsistente y varía de año en año, sin embargo se ha observado que la aplicación en dosis crecientes de N aumenta el contenido de polifenoles, α -aminoácidos y azúcares en el fruto, mientras que se reduce la concentración de ácido ascórbico (Haynes y Goh, 1987; Nestby, 1998). La deficiencia de este elemento además de reducir el rendimiento de la planta afecta la apariencia al disminuir la síntesis de antocianinas (Yoshida *et al.*, 2002).

El nivel de nutrición en que se encuentra la planta puede ser determinado a partir de las concentraciones foliares de los elementos esenciales (Tabla 2). Esta evaluación se lleva a cabo después de la cosecha, cuando los niveles foliares son relativamente estables (May y Pritts, 1994).

Tabla 2. Nivel de nutrición de la planta de fresa de acuerdo a los niveles foliares de los elementos esenciales en fresa (Pritts y Handley, 1998).

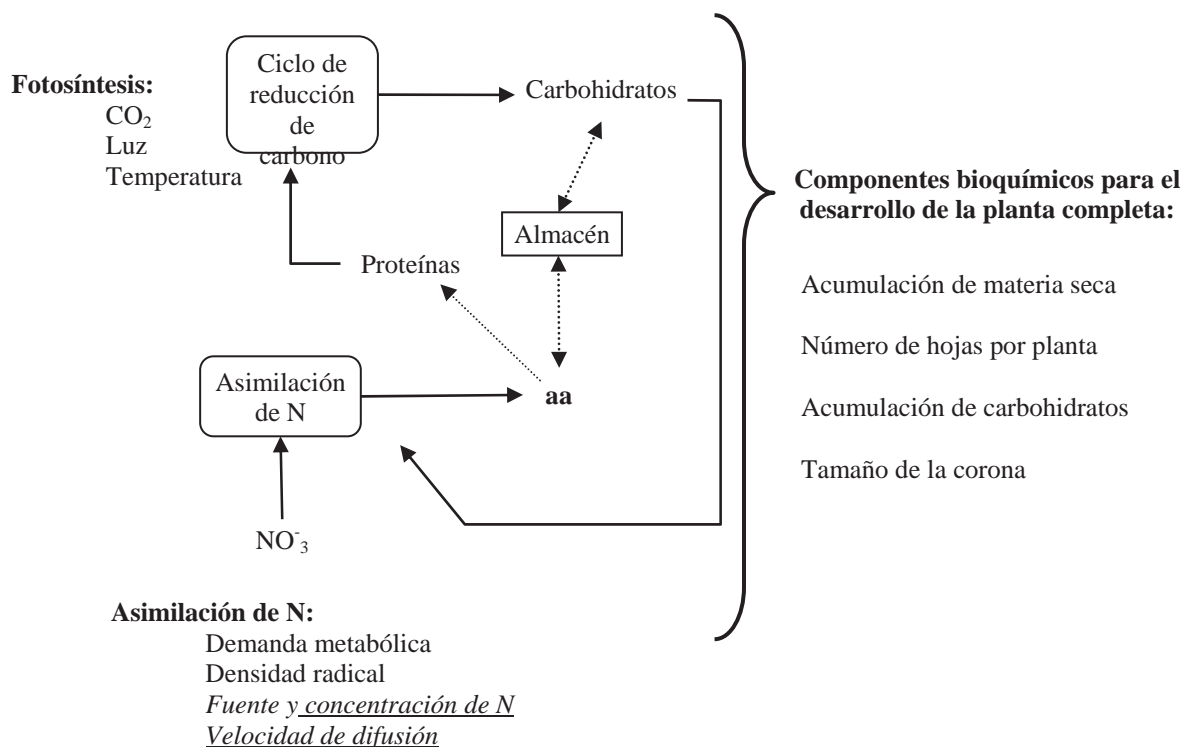
| Nutrimento | Nivel | | |
|------------|------------|-------------|--------|
| | Deficiente | Medio | Exceso |
| N (%) | 1.9 | 2.0 - 2.8 | 4.0 |
| P (%) | 0.20 | 0.25 - 0.40 | 0.50 |
| K (%) | 1.3 | 1.5 - 2.5 | 3.5 |
| Ca (%) | 0.5 | 0.7 - 1.7 | 2.0 |
| Mg (%) | 0.25 | 0.3 - 0.5 | 0.8 |
| S (%) | 0.35 | 0.4 - 0.6 | 0.8 |
| B (ppm) | 23 | 30 - 70 | 90 |
| Fe (ppm) | 40 | 60 - 250 | 350 |
| Mn (ppm) | 35 | 50 - 200 | 350 |
| Cu (ppm) | 3 | 6 - 20 | 30 |
| Zn (ppm) | 10 | 20 - 50 | 80 |

Se han realizado muchos trabajos para determinar los requerimientos nutrimentales óptimos de la planta de fresa, sin embargo en campo abierto los elementos limitantes son el N, K, B y Ca, mientras que P, Fe, Mg y Mn no son problema. Aunque los síntomas de deficiencia han sido descritos para la mayoría de los macroelementos, estos siguen siendo dependientes de las variaciones genotípicas, ambientales y sobre todo de los sistemas de cultivo que se empleen.

2.4.3 Interacción del metabolismo del carbono y del nitrógeno en las plantas superiores

Existen diversos estudios que dejan clara la estrecha relación existente entre el metabolismo del carbono y el nitrógeno que a su vez se refleja en el desarrollo y rendimiento de la planta. Las hojas contienen la maquinaria bioquímica fotosintética que convierte la energía física de los fotones en energía química en forma de ATP y también como intermediarios metabólicos reducidos tal como como el NADPH; Los productos , el cual es utilizado en la síntesis de asimilados carbonados (carbohidratos) y nitrogenados (aminoácidos) a partir del dióxido de carbono (CO_2) y del nitrato (NO_3), que son compuestos de los cuales se sintetizan todos los componentes estructurales de la planta. Estos procesos, en específico la fotosíntesis es dependiente de la concentración de dióxido de carbono y de factores ambientales como la luz y la temperatura (Figura 1).

Figura 1. Interacción entre el metabolismo del carbono y nitrógeno (Modificado de Lawlor, 2002).



La utilización del N por plantas superiores involucra varios procesos como son la absorción, almacenamiento, translocación, reducción e incorporación del N en formas orgánicas (Haynes, 1986).

Las raíces capturan el agua y los nutrientes minerales los cuales se requieren para el metabolismo, principalmente suplen de nitrógeno a la planta. Las formas de absorción del nitrógeno son los iones nitrato (NO₃⁻) y amonio (NH₄⁺).

La toma de NO₃⁻ por la planta depende de la concentración del nitrato en la solución del suelo, del volumen del suelo explorado por la raíz de la planta y de la eficiencia de las

raíces para absorber en nitrato. Este último factor es dependiente de la demanda metabólica y condiciones tales como la temperatura. El flujo del NO_3^- en la solución del suelo, a través de la superficie de la raíz y su distribución en la planta depende de la interacción que tenga el nitrato con la solución del suelo, la velocidad de difusión a través de la raíz desde el suelo y el flujo másico del agua en la planta, donde este último está relacionado con el coeficiente de transpiración del cultivo y del contenido de agua en el suelo. El nitrato puede ser almacenado en las vacuolas de raíces, o trasladarse rápidamente al xilema y concentrarse en vacuolas de la parte aérea y en órganos de almacenamiento para su posterior asimilación (Lawlor, 2002).

La asimilación del N puede llevarse a cabo en los plastídios que se encuentran tanto en hojas como en las raíces y consiste en la reducción del nitrato a amonio por acción de las enzimas nitrato y nitrito reductasas que utilizan los electrones que provienen de la cadena de transporte de la fotosíntesis. Posteriormente en una reacción catalizada por el sistema enzimático glutamato sintasa/glutamina sintetasa (GS/GOGAT), tanto el amonio originado en la reducción del nitrato como el que es absorbido directamente del suelo, se convierte en una molécula neta de glutamato a partir del α -oxoglutarato que es un compuesto proveniente del ciclo de los ácidos tricarboxílicos originados a partir de la asimilación fotosintética. El glutamato es el principal proveedor de N para la síntesis de otros aminoácidos que pueden ser almacenados en vacuolas o eventualmente son depositados en el floema para ser distribuidos a los diferentes órganos de la planta donde proveen de los sustratos necesarios para la biosíntesis de los componentes bioquímicos necesarios para el desarrollo de la planta completa (Marschner, 1995).

El conocimiento de los mecanismos del metabolismo primario de la planta son claves para el entendimiento del rendimiento en la producción de un cultivo de importancia

agronómica como lo es la fresa, que en diversos estudios se ha observado que tanto el número de hojas como la acumulación de materia seca en la planta y la acumulación de carbohidratos en la corona son factores determinantes para un buen rendimiento en fruto (Le Mière *et al.*, 1998; Macías-Rodríguez *et al.*, 2002).

Ahora bien, si la disponibilidad de asimilados es menor a la demanda, entonces el metabolismo, la composición de los tejidos y el crecimiento de la planta son dispares, en la fresa se ha observado que la deficiencia de N provoca la clorosis de las hojas debido a que las proteínas son hidrolizadas lo que causa la reducción de la síntesis de clorofila y el colapso de los cloroplastos; además de que el área foliar, la masa radical y el tamaño de los frutos se ven reducidos. Si los asimilados se encuentran en exceso entonces tienden a acumularse en diferentes órganos de la planta lo que promueve un crecimiento vegetativo desmesurado que ocasiona la reducción del rendimiento de la planta y los frutos que se producen no son firmes, además de que su proceso de maduración es lento (May y Pritts, 1990).

2.5 Sistemas de cultivo para la fresa

La respuesta de los diferentes genotipos de la plantas de fresa pueden variar dramáticamente dependiendo de las condiciones que les rodeen, por esta razón se han desarrollado diferentes sistemas de cultivo en el mundo para explotar las condiciones particulares de cada región donde se establezcan.

El principal sistema de cultivo empleado es por surcos donde el principal componente para la producción son coronas y cualquier estolón formado es removido. Este sistema es empleado para el cultivo de variedades de fotoperiodo neutro y corto en zonas donde el frío en los inviernos no es extremo y los veranos son moderadamente calientes, como en México. Se

emplean variaciones en diversos factores en este sistema de cultivo dependiendo de los requerimientos específicos de cada región productora como las fechas de plantación, la necesidad de horas frío, empleo de acolchados, altura del surco, sistemas de riego utilizados y la aplicación de fertilizantes (Hancock, 1999).

2.5.1 Fechas de plantación

Para su cultivo, la fresa es establecida en diferentes fechas del año, dependiendo de la variedad, clima y localización del cultivo (Larson, 1994). Las temperaturas en invierno y otoño son importantes al momento de seleccionar la fecha de plantación junto con el hecho de que si las plantas son de fotoperiodo neutro o corto.

Las plantas que pertenecen al tipo de fotoperiodo neutro producen fruto a los tres meses de haber sido cultivadas, por lo que son de las más populares en las zonas productoras del continente americano (California en EU y Michoacán en México). El cultivo de este tipo de plantas se da de mediados de agosto hasta mediados de septiembre o también desde mediados de octubre hasta mediados de noviembre (Strand, 1994). La producción de frutos en plantas de día neutro es cíclica, con periodos de floración y fructificación continuos aunque en ocasiones se interrumpe la primer fructificación removiendo las flores para aumentar el vigor de la planta y por consiguiente el rendimiento.

Las variaciones en la fecha de plantación optimizan varias relaciones climáticas-fisiológicas. El establecimiento en primavera se usa en plantas cultivadas en regiones donde los otoños son muy cortos y la producción de flores, coronas y rendimiento depende del desarrollo de la planta durante el verano. El sistema de plantación en verano se usa en zonas donde la temperatura de invierno permanece por arriba del punto de congelación de la planta

de tal forma que se pueden producir coronas y brotes de flor pero se detiene el desarrollo por las temperaturas. El sistema de plantación en otoño tardío es usado en zonas donde las temperaturas del invierno si permiten el desarrollo vegetativo de la planta, los cuales producen frutos de buena calidad y tamaño antes que los sistemas de verano pero con bajos rendimientos (Galleta y Bringhurst, 1990).

La productividad de la planta y la época de cosecha de fruto dependen básicamente de las condiciones ambientales predominantes en la zona productora, es por esta razón que se deben de establecer las condiciones óptimas de cultivo para cada región ya que pueden variar de lugar a lugar (Faby, 1997). En los sistemas de plantación de otoño tardío funcionan tanto las plantas sometidas a frío como las frescas (que no han sido sometidas a bajas temperaturas). Las plantas con periodos de enfriamiento de 300-500 horas a menos de 7 °C, producen flores pocos meses después de la plantación pero tienen un crecimiento vegetativo pobre (Galleta y Bringhurst, 1990). Las plantas frescas producen frutos inmediatamente después de que iniciaron su floración y más tarde producen otra ronda de flores seguida de su etapa de fructificación.

2.5.2 Sistemas de riego

La cantidad de agua que necesita una planta se calcula basándose en el contenido de humedad existente en los primeros 30 cm de su perfil radical, el cual a su vez depende del clima y el sistema de cultivo utilizado (Pritts y Handley, 1998). La aplicación del agua es por medio de una calendarización que depende del llamado “coeficiente del cultivo”, el cual refleja la demanda evaporativa o el deficit de presión de vapor por superficie de área foliar

según la época del año (Clark *et al.*, 1996). McNiesh y col. (1985) propusieron que el coeficiente de cultivo de la fresa (K_c) está ente 0.55 y 0.80.

Como en otros cultivos, la fresa requiere del riego para optimizar el desarrollo y rendimiento de la planta (Archbold, 1996). Los principales sistemas de riego utilizados son gravedad (rodado), goteo o la combinación de ambos. El sistema de riego por goteo es el más amplamente utilizado por su eficiencia a comparación del riego por gravedad que es conocido por una eficiencia que oscila en un rango de 50 a 60% (Doorenbos y Pruitt, 1986) que sigue siendo utilizado en regiones frías donde se requiere el control del congelamiento en los campos de cultivo y también en países donde no hay inversión en infraestructura como lo es México (Pritts y Handley, 1998; Monroy *et al.*, 2002).

En estudios realizados en la región de “El Bajío” Irapuato, México, Monroy y col. (2002) observaron que en el cultivo de fresa bajo sistema de riego por gravedad existe una baja productividad de solo $1.6 \text{ m}^3 \cdot \text{k}^{-1}$ fruto, lo que indica una alarmante fuga de agua en el cultivo de fresa, además de que el análisis de humedad gravimétrica en el perfil del suelo mostró que el mayor contenido de humedad se encuentra después de los 40 cm de profundidad, lo cual reafirma el problema de desperdicio de agua ya que el sistema radical de la fresa solo explora los primeros 30 cm. Además la aplicación excesiva del agua en este sistema de riego no permite que la solución nutritiva llegue al sistema radical de la planta propiciando fugas de nutrientes, sobre todo N, por volatilización ya que de $300 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$ aplicados solo recuperaron el 17% en el material vegetal. Por esta razón el sistema de riego por goteo debe considerarse de gran utilidad ya que permite que la disponibilidad de nutrientes se localice en un área muy cercana a la zona de mayor actividad y desarrollo

radical en el cultivo de fresa, además de que permite una optimización del uso del agua y N que permitan reducir el impacto ecológico y económico de la producción de fresa.

2.5.3 Aplicación de fertilizantes

Las prácticas de fertilización varían de acuerdo a la región geográfica y al sistema de cultivo aplicado. En general, el N es el más ampliamente aplicado y en grandes cantidades, seguido del K y P. Se recomienda realizar análisis tanto en el suelo como en las hojas de la planta para determinar las dosis de aplicación de estos y otros nutrimentos. Las dosis típicas aplicadas de N van de 110 a 450 kg·ha⁻¹ (Kolb, 1986), donde las dosis más bajas son utilizadas en sistemas perennes y las más altas en sistemas anuales (May y Pritts, 1990).

Para mantener niveles uniformes de N durante el cultivo de la fresa, suelen utilizarse fertilizantes de liberación lenta (Voth y Bringhurst, 1990) o la aplicación por fertirrigación (Hochmuth y Albrechts, 1994).

2.5.4 Sistemas de cultivo en invernadero

La mayoría de la producción de fresa se lleva a cabo a campo abierto, pero el uso de túneles plásticos e invernaderos cada vez son más populares para la producción de fruto en las estaciones de otoño e invierno porque acelera el proceso de maduración de frutos, que bajo estos sistemas lleva sólo de 3 a 4 semanas y además protege el cultivo de las lluvias (López-Galarza *et al.*, 1993; Hancock, 1999). Este tipo de sistemas de cultivo se realizan principalmente en países europeos (Reino Unido, Bélgica y Holanda), y asiáticos (Korea y Japón).

Dentro de este sistema de cultivo se encuentra la producción anual intensiva en suelo bajo túneles plásticos que además incluyen programas de fumigación antes de establecer el cultivo, sistemas de riego eficientes como el de goteo, el empleo de acolchados y cultivo a densidades altas de plantas (Rosatti, 1991), también se emplean sistemas suplementarios de regulación de temperaturas y horas luz.

Existen también sistemas libres de suelo, donde las plantas se establecen en bolsas que contienen una combinación de materia orgánica con algún material de sostén, como la agrolita, que tienen perforaciones en el fondo para permitir un drenado adecuado y la aplicación de agua y nutrimentos es por sistemas de fertirriego (Lieten, 1993).

2.6 Compuestos que determinan la calidad sensorial de la fresa

La fresa tiene un sabor único que la hace una de las frutas más populares, tal que el consumo mundial *per capita* es de 200 a 2500 gramos por año. Los atributos sensoriales que determinan la calidad del fruto son el color, tamaño, forma, ausencia de defectos, firmeza, textura, sabor y olor (Shamaila *et al.*, 1992) determinados por el balance apropiado de compuestos no volátiles y volátiles. Además, este fruto no solo espreciado por su sabor si no también porque es una fuente importante de vitamina C, lo que lo hace un fruto de alto valor nutritivo. (Shaw, 1988; Cordenunsi *et al.*, 2002).

2.6.1 Compuestos no volátiles

Los compuestos no volátiles como los carbohidratos, aminoácidos, ácidos orgánicos y lípidos, además de ser metabolitos primarios, forman parte de diversas rutas metabólicas que dan origen a una gran diversidad de compuestos saborizantes y compuestos volátiles que

denotan el sabor y aroma de los frutos, de tal manera que cualquier variación cualitativa y cuantitativa en ellos se reflejará en la calidad sensorial (Shamaila *et al.*, 1992; Zabetakis y Holden, 1997; Macías-Rodríguez, 2002).

a) Carbohidratos

Los carbohidratos son moléculas con funciones diversas que van desde energéticas, estructurales y metabólicas dentro de las células. También se les relaciona con la actividad biológica de evocar sabor, tal es el caso de la glucosa, fructosa y sacarosa que están relacionados directamente con la percepción del sabor dulce de la fresa (Macías-Rodríguez *et al.*, 2002). La cantidad y tipo de carbohidratos en la fresa varían según el estadio de maduración en que se encuentre el fruto, por las diferencias geográficas y genotípicas de la planta misma (Forney y Breen, 1986; Kallio *et al.*, 2000; Macías-Rodríguez *et al.*, 2002).

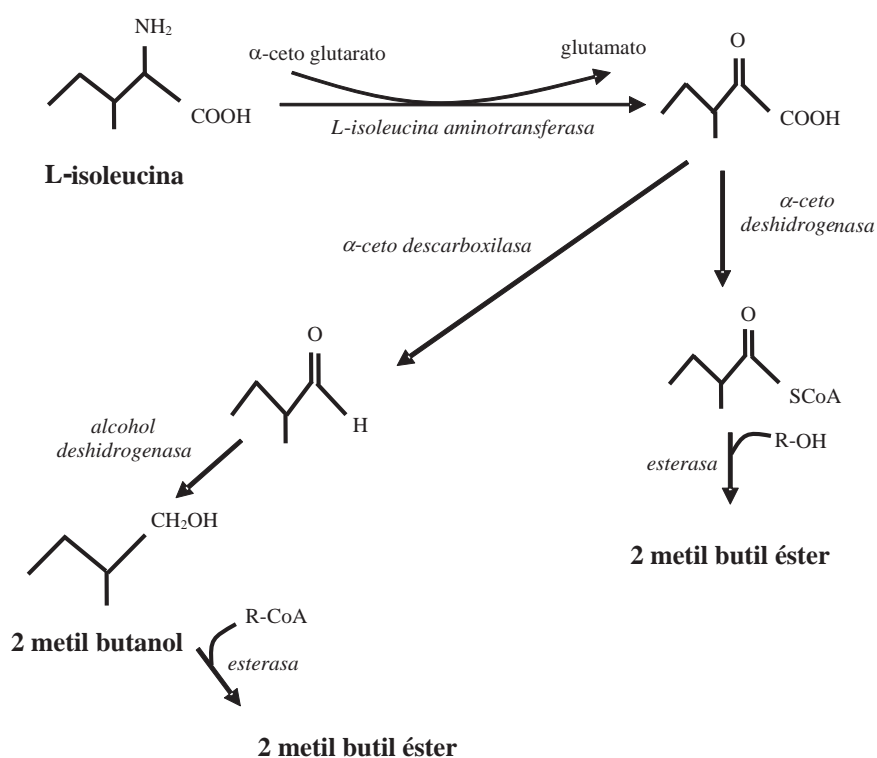
Zabetakis y Holden (1996) establecieron que a partir de carbohidratos se sintetizan algunos compuestos volátiles como es el caso de la glucosa que da origen a otros compuestos impacto en el aroma de la fresa como los pertenecientes a la familia de las furanonas (2,5-dimetil-4-hidroxi-2*H*-furan-3-ona y 2,5-dimetil-4-metoxi-2*H*-furan-3-ona).

b) Aminoácidos

Los aminoácidos constituyen uno de los pilares fundamentales del funcionamiento bioquímico de las plantas y también son dadores de nitrógeno orgánico para la formación de moléculas biológicas diversas. Por otro lado se sabe que por si mismos son compuestos capaces de evocar sabor dependiendo del isómero del que se trate, además son precursores de metabolitos secundarios como los compuestos volátiles. Pérez y col. (1992), afirmaron que la

diversidad en el tipo de ésteres encontrados en el perfil aromático de la fresa, se debía a la composición de aminoácidos lo que explica la diferencia tan marcada en el sabor y aroma entre variedades. Por estudios con marcaje radioactivo se ha demostrado que los aminoácidos valina, leucina e isoleucina son metabolizados a alcoholes (2-propanol, 3-metilbutanol y 2-metilbutanol, respectivamente) a partir de los cuales es posible obtener ésteres (Figura 2).

Figura 2. Síntesis de ésteres a partir del aminoácido isoleucina (Wyllie *et al.*, 1996)



c) Ácidos orgánicos

Otro de los factores determinantes en el sabor de la fresa es la proporción entre contenido de sólidos solubles y la acidez del fruto que está determinada por el contenido de

ácido cítrico ya que este ácido orgánico contribuye con el 90% de la acidez de la fresa (Cordenunsi *et al.*, 2002); de hecho la acidez en fresa se establece en términos de por ciento de ácido cítrico. Otro ácido orgánico que le confiere un alto valor nutricional a la fresa es el ácido ascórbico también conocido como vitamina C y que se asocia de forma benéfica a la salud de los consumidores (Pérez *et al.*, 1997).

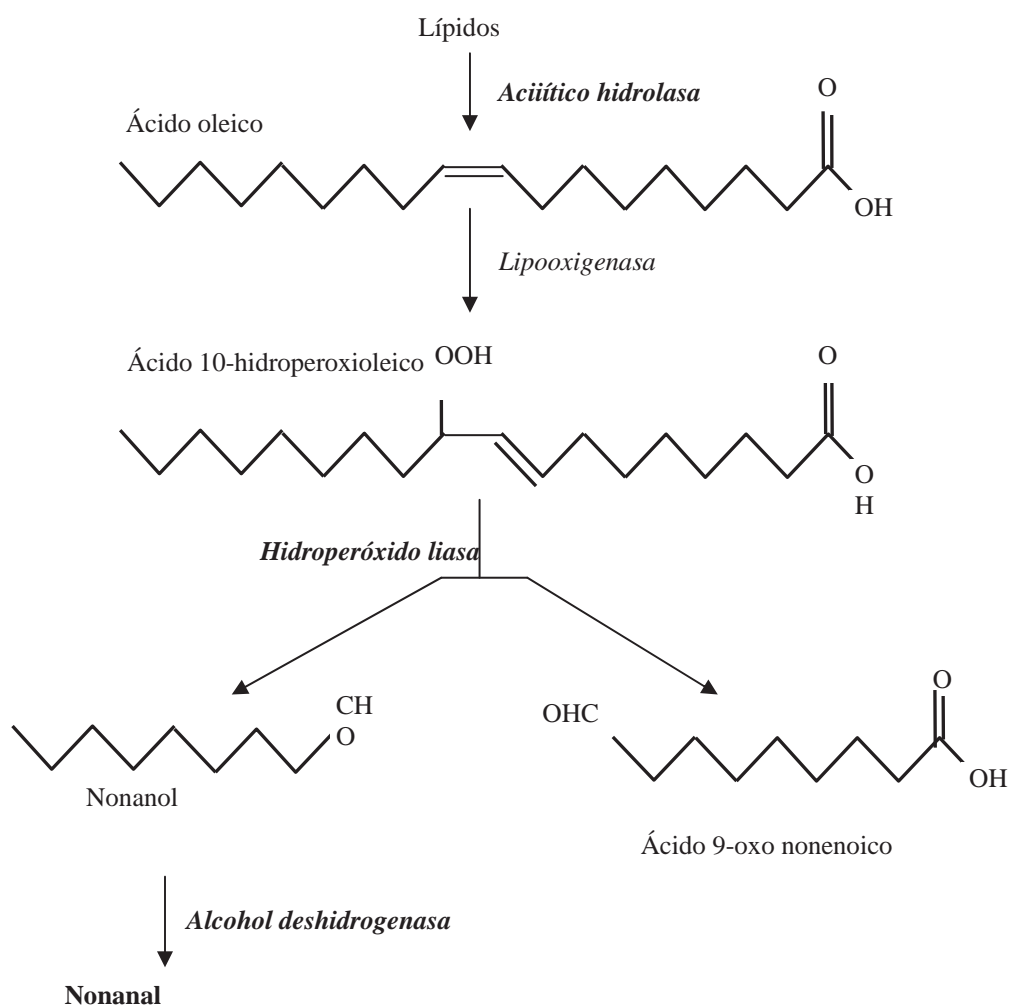
d) Ácidos grasos

En las plantas, los ácidos grasos tienen funciones diversas pues forman parte de la estructura de las membranas celulares que les confiere la propiedad de sobrevivir bajo condiciones de estrés y frío (Broun *et al.*, 1999), así como funciones energéticas ya que son fuente de carbono y también presentan la cualidad de evocar sabor, en este caso, son los responsables de las cualidades negativas puesto que son los responsables de la rancidez. Además participan en la biosíntesis de metabolitos secundarios como aquellos que proporcionan el aroma a frutos.

La formación de compuestos volátiles a partir de lípidos está asociada a su autooxidación o a la oxidación enzimática de las lipoxigenasas (Ho y Chen, 1994). La autooxidación es una reacción en cadena generadora de radicales libres como los hidroperóxidos que son compuestos muy inestables, su fragmentación involucra una división homolítica del grupo (-OOH) dando lugar a dos tipos de radicales alcoxi y un hidroxilo. De manera general el radical alcoxi sigue dos escisiones diferentes, por las que se obtienen compuestos volátiles diferentes. Algunos aldehídos formados por la autooxidación de los ácidos oleico, linoleico y linoléico son el decanal, el hexanal y el 2,4-heptadienal, respectivamente.

En la vía metabólica de la oxidación enzimática (Figura 3), participan generalmente las enzimas: acil lipolítico hidrolasa, lipoxigenasa, hidroperóxido liasa y la alcohol deshidrogenasa. La acil lipolítico hidrolasa, hidroliza a los lípidos en sus correspondientes ácidos grasos, acto seguido la lipoxigenasa oxigena de manera estereoespecífica a los ácidos grasos insaturados produciendo hidroperóxidos, la hidroperóxido liasa hidrolisa al hidroperóxido originando un aldehído y finalmente la alcohol deshidrogenasa lo reduce hasta alcohol (Hatanaka, 1993).

Figura 3. Vía metabólica de la oxidación enzimática de los ácidos grasos insaturados (Hatanaka, 1993).



Yamashita y col. (1977), demostraron que los ésteres también pueden ser obtenidos a partir de ácidos grasos. Estos autores adicionaron aldehídos y ácidos a tejido de fresa, donde los primeros fueron reducidos a alcoholes, por la alcohol deshidrogenasa, los que a su vez reaccionaron con los ácidos presentes para formar ésteres. En esta misma línea Hong y col. (1990) observaron que adicionando ácidos grasos de cadena corta a suspensiones celulares de fresa aumentaba la producción de ésteres, como el etilbutirato y el butibutirato haciendo notar la presencia de una descarboxilasa, alcohol deshidrogenasa y una esterasa. Más tarde Pérez y col. (1993) propusieron la participación de la alcohol acil transferasa, que también se ha relacionado a la síntesis de ésteres a partir de aminoácidos.

Otros compuestos de impacto en el aroma de la fresa que pueden ser generados a partir de la oxidación de ácidos grasos son las γ y δ lactonas a partir del ácido linoleico (Buttery, 1989).

2.6.2 Compuestos volátiles

La mezcla de compuestos volátiles en fresa cultivada (*Fragaria x ananassa*) es compleja ya que está constituida por compuestos de diversas clases químicas y diferentes pesos moleculares, los cuales a su vez están directamente influenciados por parámetros bioquímicos (tipo y cantidad de precursores), genéticos (especie y variedad), ambientales y geográficos en que se desarrolle la planta. En una recopilación realizada por Zabetakis y Holden (1997) reportaron alrededor de 281 compuestos volátiles diferentes que hasta esta fecha habían sido identificados en fresa cultivada independientemente de la variedad analizada o el tipo de extracción utilizado. De los compuestos encontrados, 38 fueron ácidos, 39

alcoholes, 17 aldehídos, 14 cetonas, 102 ésteres, 15 acetales, 4 furanos, 4 β -D-glucopiranosidos, 8 lactonas, 23 aromáticos, 6 azufrados y 11 terpenos.

La detección de los compuestos responsables del aroma de la fresa se ha realizado para muy pocas variedades; la mayoría de ellas de origen europeo y empleando técnicas analíticas y sensoriales para su identificación. Larsen y Poll (1992) y Larsen y col. (1992), mencionaron que el etil hexanoato, el furaneol (2,5-dimetil-4-hidroxi-2*H*-furan-3-ona) y el linalol son los compuestos que determinan el aroma característico de la fresa, mientras que los niveles de etil butanoato, metil butanoato, γ -decalactona y 2-heptanona influyen en las diferencias aromáticas entre variedades de fresa. Por su parte, Schieberle (1994), estableció que además del furaneol, los ácidos acético y butanoico así como el (*Z*)-3-hexenal son compuestos clave en el aroma de la fresa.

El análisis cualitativo y cuantitativo de los compuestos volátiles ha permitido conocer no solo los compuestos de impacto en el aroma de la fresa, si no también el grado de madurez del fruto tomando en cuenta la concentración de los volátiles presentes en cada estadio de maduración fisiológica del fruto (verde, blanco, mitad rojo, tres cuartos de rojo, rojo maduro y rojo oscuro); encontrándose que la concentración de los compuestos pertenecientes a la familia de los ésteres se incrementa rápidamente en los estadios de tres cuartos de rojo y rojo oscuro, tal es el caso de los butanoatos y hexanoatos, mientras que compuestos como el hexanal, *trans*-2-hexenol y *cis*-3-hexenil caracterizan a los frutos inmaduros correspondientes a los estadios verde y blanco (Azodanlou *et al.*, 2004).

Técnica de extracción de compuestos volátiles

Las técnicas más comúnmente empleadas en el análisis de compuestos volátiles en fresa son aquellas que se basan en la solubilidad de los compuestos como la extracción directa sólido-líquido, pero existen otras más rápidas, eficientes y reproducibles que se basan en la volatilidad como es la microextracción en fase sólida (SPME).

La técnica de SPME desarrollada por Arthur y Pawliszyn en 1990, tiene una amplia gama de aplicaciones en el análisis de compuestos volátiles y actualmente se encuentra disponible comercialmente (Yang y Peppard, 1994). En la Figura 4, se muestra el dispositivo utilizado en esta técnica que simula una jeringa en cuya punta se encuentra una fibra de sílice fundido (aproximadamente 1 cm en longitud), recubierta con un adsorbente como el polidimetilsiloxano (PMDS) y el divencilbenceno (DVB).

Figura 4. Dispositivo de microextracción en fase sólida (Pawliszyn, 1997)



La muestra se coloca en un vial de tapa con septa, y la punta de la jeringa se introduce al vial hasta atravesar la muestra o bien se deja únicamente en el espacio de cabeza para que los componentes sean atrapados por el adsorbente. El tiempo de adsorción varía según el tipo de muestra que se esté analizando, sin embargo, la toma de muestra no excede los 30 min. Posteriormente, los compuestos son desorbidos térmicamente en el puerto de inyección de un cromatógrafo de gases (CG) donde son separados e identificados. El SPME tiene la ventaja de no emplear solventes y no requerir un manejo previo de la muestra, lo cual, es altamente deseable (Holt, 2001). Además, puede ser empleado para el estudio de compuestos volátiles “vivos” que son aquellos que forman parte integral de la planta cuando aún no ha sido cosechada denotando el aroma vivo de la planta como el hexil butirato y octil butirato reportados en la fresa (Mookherjee *et al.* 1986).

3. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

A consecuencia del aumento en la demanda del fruto de la fresa y el intento de mantener el nivel de competitividad productiva nacional y estatal, se ha originado la necesidad de incrementar el rendimiento y la calidad de este fruto mediante el aumento en las dosis de los principales insumos que imitan la producción: fertilización nitrogenada y agua.

Como ya se mencionó en los antecedentes, en México, el manejo empírico de estos insumos y la falta de infraestructura para la aplicación eficiente de los mismos, han generado un impacto ambiental negativo, altos costos económicos en la producción y además los frutos no cumplen con las expectativas sensoriales que satisfacen a los consumidores.

Por esta razón en Michoacán, se ha dado gran importancia a las investigaciones agronómicas que determinen la influencia de la fertilización nitrogenada y los sistemas de

riego aplicados durante el cultivo de la planta de fresa sobre el contenido de los compuestos que determinan de la calidad gustativa del fruto para así poder optimizar la producción y calidad del fruto de la fresa.

4. HIPÓTESIS

Las propiedades organolépticas, tales como el sabor y el aroma, varían por efecto de la dosis aplicada de fertilizante nitrogenado y el sistema de riego utilizado.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar los compuestos responsables de los atributos sensoriales del fruto de la fresa (*Fragaria x ananassa* Var. Aromas) en respuesta a la fertilización con nitrógeno y el sistema de riego.

5.2 Objetivos específicos

1. Desarrollar la metodología para la identificación y cuantificación de los compuestos responsables del sabor y aroma del fruto de fresa utilizando cromatografía de gases-espectrometría de masas.
2. Determinar el efecto de la fertilización nitrogenada en el sabor y aroma de la fresa en frutos cultivados en invernadero.
3. Determinar el efecto de la fertilización nitrogenada en el sabor y aroma de la fresa en frutos cultivados en campo.
4. Determinar el efecto de la forma de riego en el sabor y aroma de la fresa en frutos cultivados en campo.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Materiales

Para cumplir con los objetivos planteados, se trabajó con material de fresa (*Fragaria x ananassa* Var. Aromas), los cuales fueron donados por el Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (IIAF-UMSNH).

6.1.1 Invernadero

El cultivo fue establecido en el invernadero del IIAF-UMSNH, ubicado en la unidad Posta Zootécnica con domicilio en carretera Morelia-Zinapécuaro km. 9.5 Tarímbaro, Michoacán.

Las plantas de fresa se establecieron el 30 de Septiembre del 2004. Cada planta se sembró en bolsas de 1 kg. que contenían una mezcla de sustrato de coco y agrolita en proporción 1:3. Se siguió un diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones y 6 plantas por unidad de muestra. Los tratamientos fueron a diferentes niveles de fertilización: 0, 0.03, 0.3, 3, 6 y 18 mM de nitrato de calcio (Tabla 3) aplicados manualmente como solución nutritiva (Cárdenas-Navarro *et al.*, 1998) en función de la necesidad de las plantas, agregando a cada bolsa igual volumen de solución.

Tabla 3. Tratamientos de plantas de fresa establecidas en invernadero

| Ca(NO₃)₂ mM | mg N/L |
|--|---------------|
| 0 | 0 |
| 0.03 | 0.42 |
| 0.3 | 4.2 |
| 3 | 42 |
| 6 | 84 |
| 18 | 252 |

El fruto seleccionado para la determinación de los compuestos responsables del sabor y aroma fue de acuerdo a un análisis estadístico previo de contenido de sólidos solubles y en función de la diferencia significativa se eligieron dos fechas: el 27 de Enero y 22 de Febrero del 2005, las cuales se encontraron dentro del primer pico de producción de la planta.

6.1.2 Campo

El cultivo se estableció en terrenos del CIIDIR en Jiquilpan Michoacán (localizado a 20° N, 102° O y altitud de 1540 m, con una temperatura promedio anual de 21°C) equipado con sistema de riego por goteo y gravedad. La fecha de establecimiento de las plantas de fresa fue a finales del mes de agosto del 2003.

El diseño experimental fue de parcelas divididas en arreglo de bloques completos al azar con tres repeticiones. Los tratamientos de la parcela mayor fueron de dos tipos: riego por goteo y riego por gravedad. Los tratamientos de las subparcelas fueron a diferentes dosis de fertilización: 0, 0.3, 1, 3, 6, 9 y 20 mM de nitrato de calcio para ambos sistemas de riego (Tabla 4). A cada tratamiento se le asignó un área de 18m² (tres surcos) con una longitud de 7 m y una separación entre surco de 0.85m. Los datos experimentales se tomaron del surco central.

Tabla 4. Tratamientos de plantas de fresa establecidas en campo.

| $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ mM | kg N ha ⁻¹ ciclo ⁻¹ |
|----------------------------------|---|
| 0 | 0 |
| 0.3 | 27 |
| 1 | 87 |
| 3 | 261 |
| 9 | 783 |
| 20 | 1740 |

La aplicación de agua en sistema de riego por goteo fue siguiendo un calendario climático preestablecido de acuerdo a la demanda estomática de la planta. La duración del riego fue de 213 días con un volumen total de 6390 m³agua·ha⁻¹. La dosificación total de los tratamientos de fertilización nitrogenada evaluados bajo sistema de riego por gravedad fueron fraccionados en 10 aplicaciones. Todas las demás prácticas de cultivo se realizaron de acuerdo con el agricultor, incluyendo la irrigación.

El fruto se seleccionó de acuerdo a un análisis estadístico previo del contenido de sólidos solubles de la fresa en los dos ciclos de producción de la planta, obteniéndose así una fecha representativa de cada ciclo: 28 de Noviembre del 2003 y el 5 de Marzo del 2004.

El fruto seleccionado de invernadero y campo se congeló a -20°C, se liofilizó y homogenizó con la finalidad de obtener material uniforme para su posterior análisis.

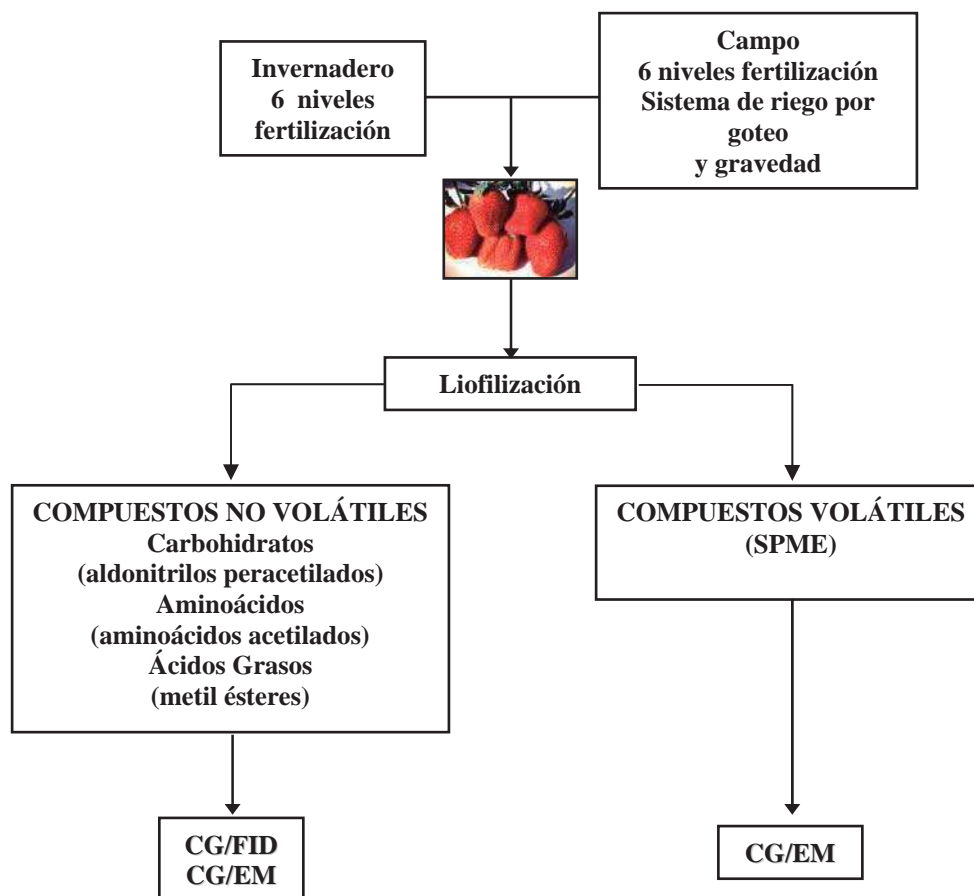
6.2 Métodos

6.2.1 Procedimiento general

Al fruto colectado tanto en invernadero como en campo se le determinó el contenido de compuestos no volátiles como carbohidratos, aminoácidos, ácidos orgánicos y lípidos

realizando el proceso de derivación química correspondiente para su respectivo análisis por cromatografía de gases (CG-FID) y de compuestos volátiles, utilizando la combinación de la técnica de microextracción en fase sólida (SPME) y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) (Figura 5).

Figura 5. Esquema general del procedimiento realizado en este trabajo



6.2.2 Determinación de carbohidratos, aminoácidos y ácidos orgánicos

Se pesó 0.5 g de material y se extrajo con 40 mL de etanol 80%. La extracción se realizó a 65°C y con agitación continua por 15 h. Se filtró al vacío descartando la pastilla; el filtrado se evaporó a sequedad en un rotavapor a 40°C. La muestra seca se resuspendió en 5 mL de etanol 80%. Los extractos etanólicos crudos se almacenaron a -20°C.

La extracción de aminoácidos se realizó a partir del extracto etanólico crudo al que se le ajustó el pH entre 2.5 y 3 con HCl 3M y se tomó una alícuota de 2 mL adicionando Norvalina (50 µg) como estándar interno. La muestra se aplicó a una resina de intercambio catiónico de un tamaño de malla de 200-400. Los aminoácidos se eluyeron con hidróxido de amonio 80%; la fracción obtenida se evaporó a sequedad en un rotavapor a 40°C, se resuspendió con 2 mL con HCl 0.01N. Los extractos ácidos se mantuvieron a -20°C hasta su utilización.

a) Derivación de carbohidratos

Se tomó una alícuota de 100 µL a partir del extracto etanólico crudo para su derivación. Se adicionó persitol (25 µg) como estándar interno. La muestra se llevó a sequedad total y se le agregó 1.5 mL de cloruro de hidroxilamina en piridina (53 mg/3mL). Se sonicó por 30 min y se incubó a 85°C por 1 h. Posteriormente se agregó 500 µL de piridina y 1 mL de anhídrido acético, se incubó por 30 min a 85°C. Se dejó enfriar la muestra a temperatura ambiente y se transfirió a un tubo de ensaye que contenía previamente 1mL de cloroformo y 1 mL de agua; se lavó la muestra 3 veces con 1 mL de agua. Finalmente se deshidrató con sulfato de sodio anhidro y se evaporó a sequedad. Se resuspendió en 200 µL de cloroformo (Macías-Rodríguez *et al.*, 2002). El volumen de inyección fue de 1/200 µL .

b) Identificación de carbohidratos

Se llevó a cabo con un CG-EM equipado con una columna HP-5 MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m) bajo las siguientes condiciones: el gas acarreador fue Helio con una presión de 13.3 psi y flujo de columna de 1 mL/min, la temperatura inicial del horno fue de 150°C por 3 min con incrementos de 6°C/min, la temperatura final fue de 270°C y se mantuvo por 15 min. La temperatura tanto del inyector como de la línea de transferencia fue de 300°C. Los parámetros del espectrómetro de masas fueron las siguientes: presión de la fuente de 50 mTorr, voltaje del filamento de 70 eV y una velocidad de scan de 1.9 scan/s. La identificación de los compuestos se realizó por comparación con los espectros de masas de la biblioteca del CG-EM.

c) Cuantificación de carbohidratos

Se utilizó un CG-FID equipado con una columna HP-5 (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m) bajo las siguientes condiciones: el gas acarreador fue Nitrógeno con una presión de 5 psi y el flujo de la columna de 1 mL/min, la temperatura inicial del horno fue de 150°C por 3 min con incrementos de 6°C/min. La temperatura final fue de 270°C y se mantuvo por 25 min. Las temperaturas del inyector y detector fueron de 230 y 250°C, respectivamente. La cuantificación fue realizada en base al estándar interno persitol.

d) Derivación de aminoácidos y ácidos orgánicos

De cada extracto se tomó una alícuota de 1 mL para su derivación. La muestra se llevó a sequedad total y se agregó una solución de metanol/cloruro de acetilo (2 mL/500 μ L). Se sonicó por 45 min y se incubó por 1 h a 75°C. La muestra se dejó enfriar a temperatura

ambiente, se secó completamente, se adicionó 1 mL de diclorometano y 1.5 mL de anhídrido acético y se volvió a incubar a 75°C por 1.5 h. Pasado ese tiempo se transfirió a un tubo de ensaye que contenía previamente 1mL de cloroformo y 1 mL de agua; se lavó la muestra 2 veces con 1mL de agua. Finalmente se deshidrató con sulfato de sodio anhidro y se evaporó a sequedad. Se resuspendió en 25 µL de diclorometano. El volumen de inyección fue de 2/25 µL (Macías-Rodríguez, 2002).

e) Identificación de aminoácidos y ácidos orgánicos

Se llevó a cabo con un CG-EM equipado con una columna HP-5 MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) bajo las siguientes condiciones: el gas acarreador fue Helio con una presión de 13.3 psi y flujo de columna de 1 mL/min, la temperatura inicial del horno fue de 150°C por 3 min con incrementos de 5°C/min, la temperatura final fue de 278°C y se mantuvo por 5 min. Las temperaturas del inyector y de la línea de transferencia fueron de 270 y 300°C, respectivamente. Los parámetros del espectrómetro de masas fueron las siguientes: presión de la fuente de 50 mTorr, voltaje del filamento de 70 eV y una velocidad de scan de 1.9 scan/s. La identificación de los compuestos se realizó por comparación con los espectros de masas de la biblioteca del CG-EM.

f) Cuantificación de aminoácidos y ácidos orgánicos

Se utilizó un CG-FID equipado con una columna HP-5 (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) bajo las siguientes condiciones: el gas acarreador fue Nitrógeno con una presión de 10 psi y el flujo de la columna de 4.35 mL/min, la temperatura inicial del horno fue de 80°C por 3 min con incrementos de 6°C/min. La temperatura final fue de 230°C y se mantuvo por 40 min. Las

temperaturas del inyector y detector fueron de 180 y 250°C, respectivamente. La cuantificación fue realizada en base al estándar interno norvalina.

6.2.3 Determinación de ácidos grasos

a) Derivación de ácidos grasos

Se realizó por la técnica denominada transesterificación *in situ*. Se pesaron 50 mg de muestra, se adicionó 500 µL de agua y 100 µL de una solución de ácido heptadecanoico en metanol (1mg/2mL) como estándar interno. Se agitó y se tomó una alícuota de 200 µL colocándolo en un vial de reacción al que se le adicionó 100 µL de diclorometano y 1 mL de hidróxido de sodio en metanol al 0.5N. Se incubó a 90°C por 10 min. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se le añadió 1 mL de tricloruro de boro en metanol. Los metil ésteres de ácidos grasos se extrajeron con 2 mL de hexano y se deshidrataron con sulfato de sodio anhidro. Finalmente se evaporó a sequedad y se resuspendió en 25 µL de isooctano. El volumen de inyección fue de 2/25 µL (Macías-Rodríguez, 2002).

b) Identificación

Se llevó a cabo con un CG-EM equipado con una columna HP-FFAP (30 m x 0.32 mm x 0.25 µm) bajo las siguientes condiciones: el gas acarreador fue Helio con una presión de 2 psi y flujo de columna de 1.5 mL/min, la temperatura inicial del horno fue de 150°C por 3 min con incrementos de 5°C/min hasta una temperatura de 180°C por 3 min, un segundo incremento de 2°C/min hasta una temperatura de 200°C por 1 min y finalmente un tercer incremento de 10°C/min hasta una temperatura final de 220°C y se mantuvo por 4 min. Las

temperaturas del inyector y de la línea de transferencia fueron de 220 y 280°C, respectivamente. Los parámetros del espectrómetro de masas fueron las siguientes: presión de la fuente de 50 mTorr, voltaje del filamento de 70 eV y una velocidad de scan de 1.9 scan/s. La identificación de los compuestos se realizó por comparación con los espectros de masas de la biblioteca del CG-EM.

c) Cuantificación

Se utilizó un CG-FID equipado con una columna HP-FFAP (30 m x 0.32 mm x 0.25 μ m) bajo las siguientes condiciones: el gas acarreador fue Nitrógeno con una presión de 10 psi y el flujo de la columna de 25 mL/min, la temperatura inicial del horno fue de 150°C por 3 min con incrementos de 5°C/min hasta una temperatura de 180°C por 1 min, un segundo incremento de 2°C/min hasta una temperatura de 200°C y finalmente un tercer incremento de 10°C/min hasta una temperatura final de 230°C y se mantuvo por 7 min. Las temperaturas del inyector y detector fueron de 200 y 250°C, respectivamente. La cuantificación fue realizada en base al estándar interno ácido heptadecanóico.

6.2.4 Determinación de compuestos volátiles

a) Extracción

Se pesó 0.1 g de material, se colocó dentro de un vial y se dejó incubar 1h a 28°C. Se utilizó una fibra gris (divenilbenceno/polidimetilsiloxano). El SPME se introdujo dentro de los viales por 30 min para realizar la toma de muestra. Los volátiles se desorbieron térmicamente en el puerto de inyección del CG a 150°C por 1 min. Después de cada análisis la fibra se activó en el puerto de inyección del CG a 250°C por 30 min (Macías-Rodríguez, 2002).

b) Identificación y cuantificación

Se empleó una columna HP-FFAP (30 m x 0.32 mm x 0.25 μ m) bajo las siguientes condiciones: el gas acarreador fue Helio con una presión de 2 psi y flujo de columna de 1.5 mL/min, la temperatura inicial del horno fue de 50°C por 1 min con incrementos de 8°C/min hasta una temperatura de 73°C por 1 min, un segundo incremento de 8°C/min hasta una temperatura de 139°C por 1 min y finalmente un tercer incremento de 12°C/min hasta una temperatura final de 220°C y se mantuvo por 16 min. Las temperaturas del inyector y de la línea de transferencia fueron de 150 y 280°C, respectivamente. Los parámetros del espectrómetro de masas fueron las siguientes: presión de la fuente de 50 mTorr, voltaje del filamento de 70 eV y una velocidad de scan de 1.9 scan/s. La identificación de los compuestos se realizó por comparación con los espectros de masas de la biblioteca del CG-EM. La cuantificación se realizó por porcentaje de área integrada para cada uno de los compuestos.

6.2.5. Análisis estadístico

Los cálculos y el análisis estadístico se efectuaron con el paquete estadístico STATISTICA (Data analysis software system, StatSoft Inc. Versión 6, 2001), empleando la prueba de la diferencia mínima significativa (LSD) para la comparación de medias

7. RESULTADOS

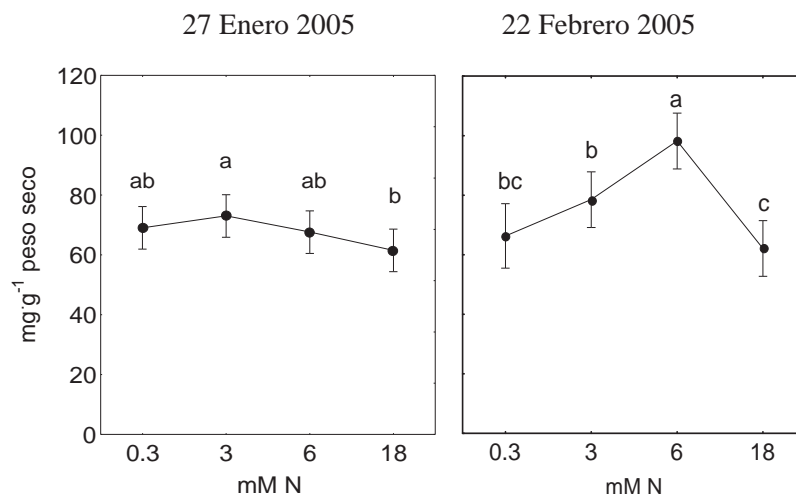
7.1 Resultados obtenidos en el fruto de fresa var. Aromas analizado en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica

Bajo este sistema de cultivo sólo se analizaron los frutos obtenidos de plantas fertilizadas con las dosis de: 0.3, 3, 6 y 18 mM de nitrato, ya que solo de éstas se obtuvo el material biológico suficiente para hacer las determinaciones.

7.1.1 Carbohidratos

La determinación del contenido de carbohidratos libres totales en los frutos cultivados en invernadero mostró que en la cosecha del 27 de Enero la mayor acumulación se dió con la aplicación de 3 mM ($73.06 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) y solo fue significativamente diferente con respecto a 18 mM de nitrato ($61.53 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$); en contraste con la cosecha del 22 de Febrero donde la concentración máxima se alcanzó en plantas tratadas con 6 mM ($98.20 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) siendo significativamente diferente respecto a los demás niveles de fertilización utilizados (Figura 6).

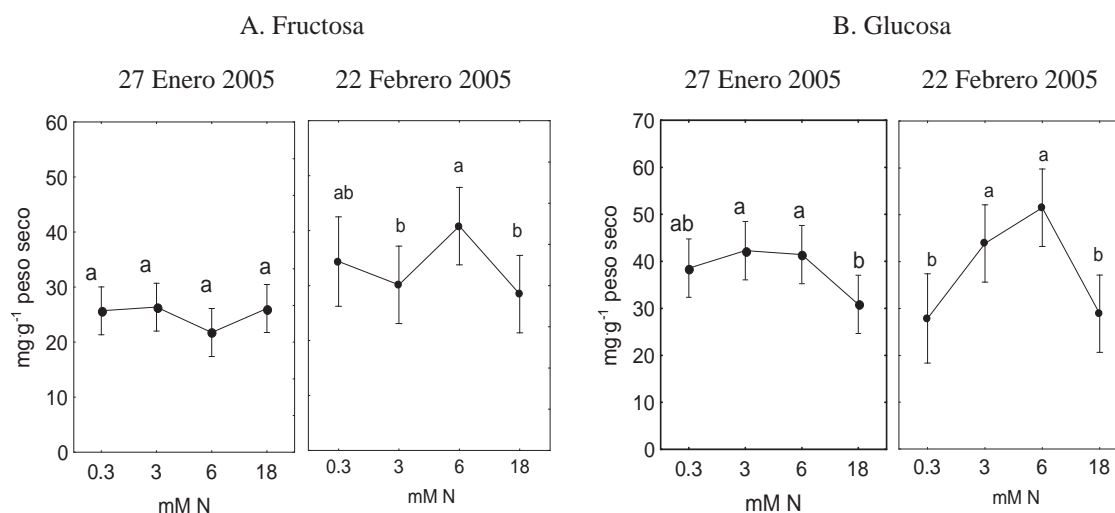
Figura 6. Contenido de carbohidratos libres totales en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica.



Cada punto representa la media de cuatro repeticiones \pm desviación estándar. El análisis estadístico se realizó de manera independiente por fecha, puntos con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$.

En los frutos la glucosa y la fructosa fueron los azúcares predominantes siendo en promedio el 93% del contenido total de carbohidratos libres, lo que coincide con lo reportado por Macías-Rodríguez y col. (2002) que mencionaron que el contenido de la glucosa, fructosa y sacarosa es casi el 99% del contenido total de carbohidratos libres. Como se muestra en la Figura 7A, la concentración de fructosa en los frutos cosechados el 27 de Enero permaneció casi constante al aplicar las diferentes dosis de fertilización nitrogenada aunque la máxima concentración registrada fue en 3 mM (26.39 mg g^{-1}), en contraste para los frutos analizados del 22 de Febrero existió un aumento significativo de la concentración de fructosa en 6 mM (40.83 mg g^{-1}) con respecto a 3 y 18 mM de nitrato (30.15 y 28.45 mg g^{-1} , respectivamente).

Figura 7. Contenido de fructosa (A) y glucosa (B) en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica.



Cada punto representa la media de cuatro repeticiones \pm desviación estándar. El análisis estadístico se realizó de manera independiente por fecha, puntos con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$.

En el caso de la glucosa (Figura 7B) en los frutos pertenecientes al 27 de enero, la concentración disminuyó significativamente en el nivel de 18 mM (30.86 mg g^{-1}) mientras que las concentraciones máximas alcanzadas fueron en 3 y 6 mM (42.27 y 41.44 mg g^{-1} , respectivamente), algo similar sucede en los frutos de la segunda fecha analizada ya que la concentración aumenta significativamente en los niveles de fertilización 3 y 6 mM (43.88 y 51.51 mg g^{-1} , respectivamente) a comparación de las dosis de 0.3 y 18 mM (27.88 y 28.89 mg g^{-1} , respectivamente).

En la determinación del contenido de pentosas en los frutos cosechados en invernadero (Tabla 5), se observó que en general no existieron diferencias significativas durante la primer fecha de cosecha analizada ya que ribosa y arabinosa hubo solo una tendencia a alcanzar su máxima concentración en 18 y 0.3 mM de nitrato, respectivamente, mientras que la concentración de xilosa aumentó significativamente en el nivel de 6 mM con respecto a las dosis de fertilización nítrica de 3 y 18 mM. En el caso del análisis para la fecha del 22 de

Febrero se observó que hubo una acumulación significativa de ribosa y arabinosa en el nivel de 6 mM de nitrato respecto al resto de los niveles aplicados, a diferencia de la concentración de xilosa donde la tendencia es a aumentar con forme aumenta el nivel de fertilización pero sin ser significativa.

Tabla 5. Contenido de pentosas ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificadas en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. Valores promedio de cuatro repeticiones.

| | Nivel de fertilización (mM) | | | | | | | |
|-----------|-----------------------------|--------|-------|--------|------------|-------|-------|-------|
| | 27 Enero | | | | 22 Febrero | | | |
| | 0.3 | 3 | 6 | 18 | 0.3 | 3 | 6 | 18 |
| Ribosa | 2.60a ^Z | 2.55a | 2.56a | 2.74a | 0.06b | 0.06b | 0.17a | 0.08b |
| Arabinosa | 1.22a | 1.16a | 1.11a | 1.08a | 3.11b | 3.46b | 4.73a | 3.45b |
| Xilosa | 0.01a | 0.005b | 0.01a | 0.005b | 0.48a | 0.54a | 0.47a | 0.66a |

^Z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada carbohidrato y fecha.

En el análisis cuantitativo de otras hexosas como la manosa se encontró que en la primer fecha de cosecha la máxima acumulación se dió en el nivel más bajo de nitrato (0.3 mM), pero para el 22 de Febrero ésta fue en 6 y 18 mM; en el caso de la galactosa se observó que la mayor acumulación se logró al nivel de 6 mM en la primer fecha y en 18 mM para la segunda fecha de cosecha (Tabla 6).

En el caso del *myo*-inositol se ha reportado que participa en la biosíntesis del ácido fítico, el cual es considerado como una fuente importante de fosfato en plantas (Loewus y Loewus., 1980), y lo que indica el análisis estadístico del *myo*-inositol fue que la concentración de este compuesto fue diferente entre los niveles 6 mM y 18 mM donde en este último se alcanzó la máxima acumulación, esto sugiere que la fertilización nitrogenada puede

influnciar la disponibilidad de fosfato en plantas a través de la producción de ácido fítico a partir de inositol.

Tabla 6. Contenido de otros carbohidratos ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización níttrica. Valores promedio de cuatro repeticiones.

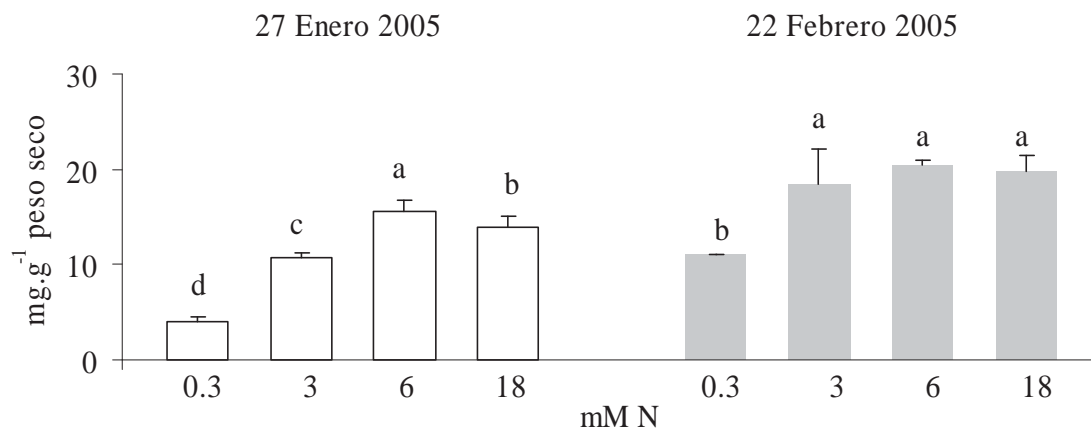
| | Nivel de fertilización (mM) | | | | | | | |
|--------------|-----------------------------|-------|-------|-------|------------|--------|-------|-------|
| | 27 Enero | | | | 22 Febrero | | | |
| | 0.3 | 3 | 6 | 18 | 0.3 | 3 | 6 | 18 |
| Manosa | 0.59a ^z | 0.42b | 0.41b | 0.45b | 0.16b | 0.22ab | 0.27a | 0.30a |
| Galactosa | 0.02c | 0.04b | 0.06a | 0.04b | 0.05a | 0.04a | 0.05a | 0.06a |
| Myo inositol | 0.25a | 0.24a | 0.24a | 0.27a | 0.18ab | 0.17ab | 0.13b | 0.22a |

^z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada carbohidrato y fecha.

7.1.2 Aminoácidos

El análisis de los frutos cosechados en las dos fechas representativas del primer pico de producción en invernadero facilitó observar la influencia de la fertilización níttrica sobre el contenido de aminoácidos libres totales, el cual aumentó conforme se incrementó el nivel de fertilización, alcanzando la máxima concentración en el nivel de 6 mM de nitrato en ambas fechas, 15.92 y 20.68 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ respectivamente (Figura 8).

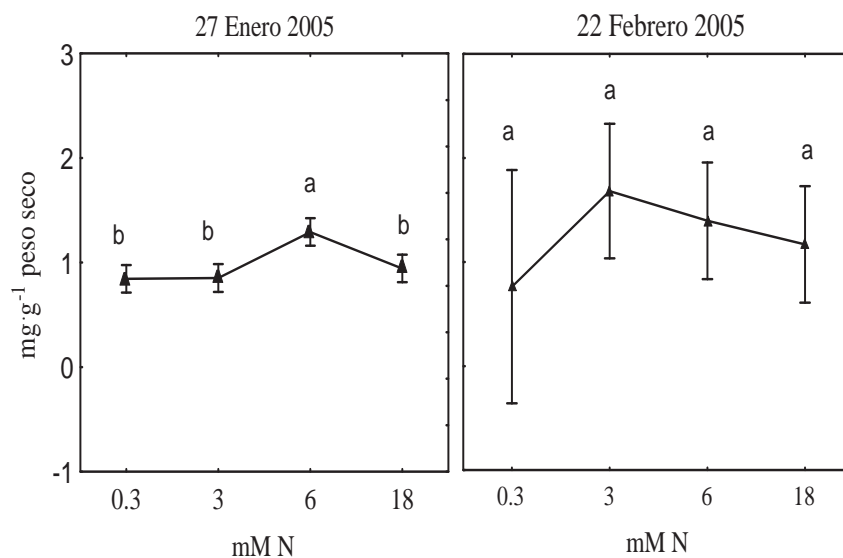
Figura 8. Contenido de aminoácidos libres totales en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica.



Cada barra representa la media de cuatro repeticiones \pm desviación estándar. El análisis estadístico se realizó de manera independiente por fecha, barras con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$.

En lo que respecta al valor nutricional de acuerdo al contenido de aminoácidos esenciales totales (Figura 9), se observó que en ambas fechas de cosecha existió la misma concentración y que en los frutos colectados el 27 de Enero, la mayor acumulación fue en 6 mM ($1.29 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$), en comparación con el 22 de Febrero donde se alcanzó en 3 mM ($1.68 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$).

Figura 9. Contenido de aminoácidos esenciales totales en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica.



Cada punto representa la media de cuatro repeticiones \pm desviación estándar. El análisis estadístico se realizó de manera independiente por fecha, barras con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$.

De manera individual, la mayor acumulación significativa de los aminoácidos esenciales identificados en frutos del 27 de Enero fue para fenilalanina en 18 mM ($0.17 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$), treonina en 6 mM ($0.66 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) y para lisina con $0.11 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, tanto en 0.3 como 6 mM de nitrato. Para la segunda fecha (22 Febrero) se observó una acumulación de casi el doble con respecto a la primer fecha analizada, alcanzando la mayor concentración para fenilalanina en 6 mM ($0.39 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$), para treonina en 18 mM ($0.81 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) y para lisina en 0.3 mM con $0.30 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (Tabla 7)

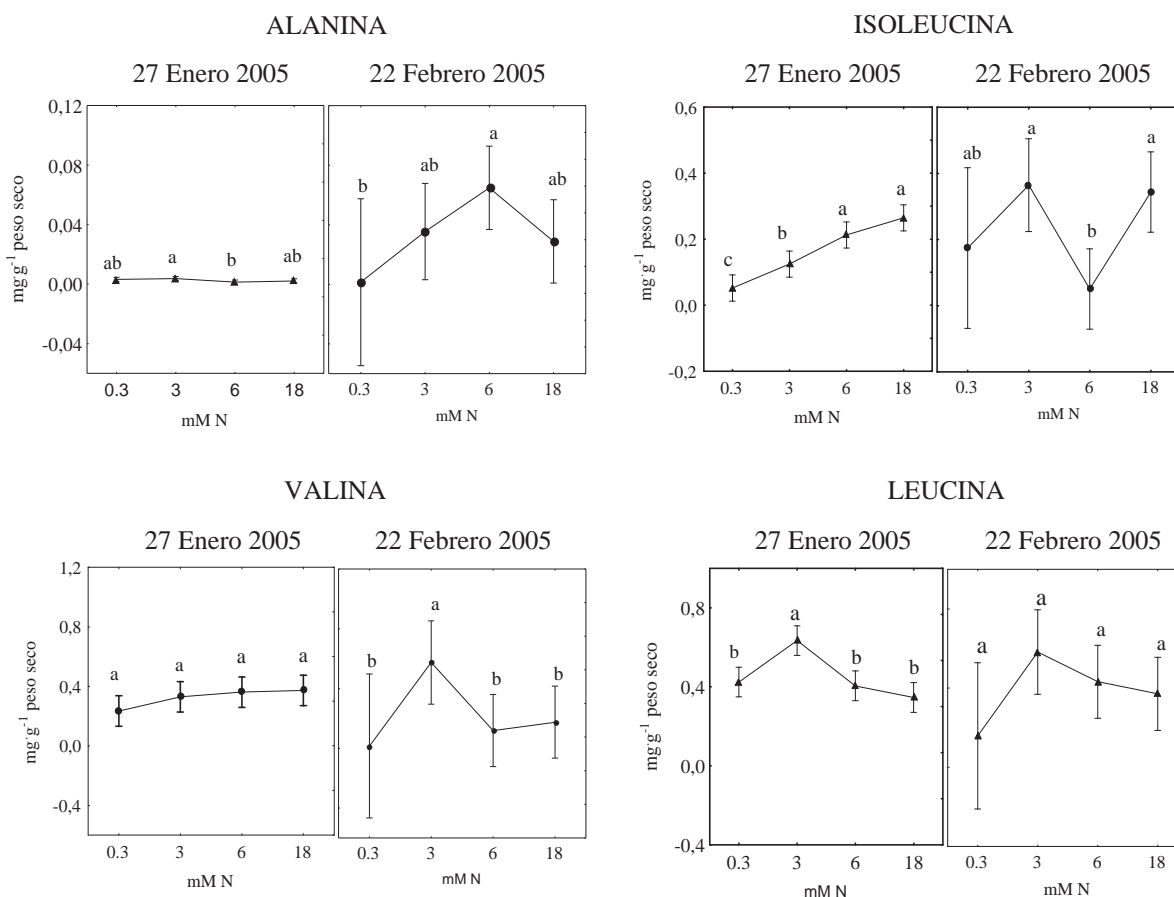
Tabla 7. Contenido de aminoácidos esenciales ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización níttrica. Valores promedio de cuatro repeticiones.

| | Nivel de fertilización (mM) | | | | | | | |
|--------------|--------------------------------|--------|-------|--------|------------|-------|-------|-------|
| | 27 Enero | | | | 22 Febrero | | | |
| | 0.3 | 3 | 6 | 18 | 0.3 | 3 | 6 | 18 |
| Fenilalanina | 0.04c ^Z | 0.07b | 0.14a | 0.17a | 0.21b | 0.26b | 0.39a | 0.15b |
| Treonina | 0.46b | 0.39bc | 0.66a | 0.34c | 0.23a | 0.69a | 0.60a | 0.81a |
| Lisina | 0.11a | 0.07b | 0.11a | 0.08ab | 0.30a | 0.16b | 0.29b | 0.04c |

^Z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada aminoácido y fecha.

Según Pérez y col. (1992), la valina, leucina, e isoleucina, son los aminoácidos que más participan como precursores de compuestos volátiles en fresa, pero en el caso específico de la alanina, los autores observaron que el contenido de este aminoácido varió significativamente durante la maduración del fruto de fresa, por lo que sugirieron que la alanina podría ser el responsable primario del alto contenido de ésteres en el perfil aromático del fruto. En los resultados de esta investigación se observó que durante el 27 de Enero la mayor acumulación de alanina y leucina fue en 3 mM, mientras que para isoleucina y valina fue en el mayor nivel de fertilización evaluado (18 mM). El efecto del nivel de N aplicado fue más marcado para la fecha del 22 de Febrero ya que para isoleucina, valina y leucina la mayor acumulación se presentó a 3 mM a diferencia de alanina que fue en 6 mM, estos resultados muestran que la fertilización nitrogenada influye en la síntesis de los compuestos precursores del aroma en el fruto (Figura 10).

Figura 10. Contenido de aminoácidos precursores de compuestos volátiles en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica.



Cada punto representa la media de cuatro repeticiones \pm desviación estándar. El análisis estadístico se realizó de manera independiente por fecha, puntos con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$.

Al analizar los resultados de los aminoácidos no esenciales identificados en este estudio se puede observar en la Tabla 8, que de manera general la concentración de cada uno aumenta de forma significativa a 6 mM para posteriormente disminuir; en el caso de los aminoácidos glu/gln y asp/aspn se observó que se acumulan en mayor medida al aumentar la dosis de fertilización nitrogenada lo que era de esperar ya que al ser los principales

aminoácidos de transporte de nitrógeno tienen la función de relocalizar continuamente el N en función de la concentración de NO_3^- externo (Darnell y Sutte, 2001).

Tabla 8. Contenido de aminoácidos no esenciales ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. Valores promedio de tres repeticiones.

| | Nivel de fertilización (mM) | | | | | | | |
|----------|--------------------------------|-------|-------|--------|------------|--------|-------|-------|
| | 27 Enero | | | | 22 Febrero | | | |
| | 0.3 | 3 | 6 | 18 | 0.3 | 3 | 6 | 18 |
| Glicina | 0.11c | 0.67a | 0.41b | 0.40 b | 0.19b | 0.25b | 0.71a | 0.66a |
| Serina | 0.05b | 0.05b | 0.12a | 0.04b | 0.02a | 0.02a | 0.03a | 0.03a |
| Asp/Asn | 0.44b | 1.30a | 1.52a | 1.40a | 0.33bc | 0.42c | 1.06b | 1.73a |
| Glu/Gln | 0.15c | 1.58b | 1.64b | 2.22a | 3.01a | 4.76a | 6.06a | 4.68a |
| Tirosina | 0.04b | 0.04b | 0.07a | 0.04b | 0.02b | 0.09 b | 0.17a | 0.09b |
| Lisina | 0.11a | 0.07b | 0.11a | 0.08ab | 0.30a | 0.16b | 0.29b | 0.04c |

^z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada aminoácido y fecha.

7.1.3 Ácidos orgánicos

En el análisis de los frutos cultivados en invernadero se observó que en las fechas de muestreo existió una mayor concentración de ácido cítrico el 22 de Febrero que en los frutos del 22 de Enero (Tabla 9), que como se ha reportado la acumulación de estos compuestos depende en gran medida de la fecha de cosecha (Lee y Kader, 2000). Además la variación en la concentración de ácido cítrico en respuesta a los niveles de fertilización evaluados podría ser a consecuencia de un ajuste metabólico por parte de la planta debido a que durante la asimilación de nitrato la síntesis de carbohidratos disminuye y más carbono se convierte vía glicólisis en fosfoenolpiruvato y entra al metabolismo de los ácidos orgánicos el cual tiene

distintas funciones dentro de la asimilación de nitrato, una de ellas para sintetizar malato que actúa como contraión para evitar la alcalinización y la otra es proveer 2-oxoglutarato que es el aceptor primario para amonio (Stitt *et al.*, 2002).

Como se muestra en la Tabla 9, la concentración del ácido ascórbico aumentó significativamente hasta alcanzar una concentración máxima en 6 mM en los frutos cosechados el 27 de Enero mientras que para el 22 de Febrero la mayor acumulación se dio a 3 mM de nitrato. En el análisis del ácido cítrico se observó un aumento significativo en la dosis de 6 mM de nitrato respecto a los niveles de N más bajos (0.3 y 3 mM), esto para ambas fechas evaluadas.

Tabla 9. Contenido de ácidos orgánicos (mg g^{-1} peso seco) identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. Valores promedio de tres repeticiones.

| | Nivel de fertilización (mM) | | | | | | | |
|-----------------|-----------------------------|-------|-------|-------|------------|-------|-------|-------|
| | 27 Enero | | | | 22 Febrero | | | |
| | 0.3 | 3 | 6 | 18 | 0.3 | 3 | 6 | 18 |
| Ácido ascórbico | 0.27b ^Z | 1.89a | 2.53a | 2.46a | 4.18b | 7.02a | 2.76b | 3.59b |
| Ácido cítrico | 1.67c | 3.65b | 7.47a | 5.83a | 2.19c | 4.39b | 7.70a | 7.16a |

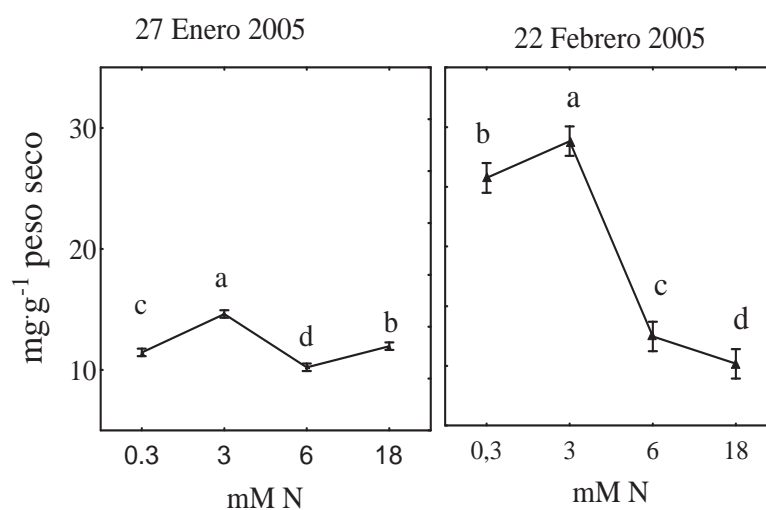
^Z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada ácido orgánico y fecha.

7.1.4 Ácidos grasos

El análisis del contenido de ácidos grasos libres totales en fruto mostró que estos metabolitos fueron de los que más se vieron afectados por la aplicación de niveles crecientes de nitrógeno (Figura 11), ya que tendieron a disminuir significativamente en las dosificaciones más altas evaluadas (6 y 18 mM), también como se muestra en esta misma Figura, se observó

una mayor concentración de ácidos grasos libres totales el 22 de Febrero que en el 27 de Enero, esto puede deberse a que al encontrarse la planta en pleno desarrollo hay una mayor acumulación de compuestos, como los lípidos que son componentes bioquímicos importantes para el desarrollo vegetativo completo.

Figura 11. Contenido de ácidos grasos libres totales en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica.



El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada ácido graso y fecha, puntos con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$.

Del total de los ácidos grasos libres identificados, los ácidos grasos insaturados fueron los más abundantes en ambos muestreos (Tabla 10), dato importante desde el punto de vista aromático y nutricional ya que estos compuestos se consideran precursores de compuestos volátiles como los pertenecientes a la familia de los aldehídos (Ho y Chen, 1994) y además es precursor de los eicosanoides (como el ácido docosahecanoico) que actúan de forma benéfica sobre el sistema cardiovascular, inmunológico y nervioso (Macías-Rodríguez, 2002); es también de notar que al igual que la cuantificación de los ácidos grasos libres totales hay una

mayor acumulación de éstos compuestos el 22 de Febrero. Como se observa en ésta misma Tabla, la mayor acumulación de los ácidos grasos insaturados en ambas fechas analizadas fue en el nivel de 3 mM (11.60 y 21.89 mg·g⁻¹) a diferencia de los ácidos grasos saturados que en el 27 de Enero la mayor concentración fue en 18 mM (3.26 mg·g⁻¹) pero no así en la segunda fecha evaluada donde se alcanzó en 3 mM (6.94 mg·g⁻¹)

Tabla 10. Contenido de ácidos grasos libres insaturados y saturados (mg·g⁻¹ peso seco) en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. Valores promedio de cuatro repeticiones.

| | | Nivel de fertilización (mM) | | | | | | | |
|--------------------|--------|-----------------------------|--------|-------|-------|------------|--------|-------|-------|
| | | 27 Enero | | | | 22 Febrero | | | |
| | | 0.3 | 3 | 6 | 18 | 0.3 | 3 | 6 | 18 |
| Ácidos insaturados | grasos | 8.42b ^Z | 11.60a | 7.56c | 8.70b | 19.21b | 21.89a | 9.21c | 7.29d |
| Ácidos saturados | grasos | 3.03b | 3.03b | 2.65c | 3.26a | 6.54b | 6.94a | 3.26c | 2.88d |

^Z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada ácido graso y fecha.

En la Tabla 11, se muestran los ácidos grasos identificados en los frutos cosechados el 27 de Enero y el 22 de Febrero y se observó que el C18:2 fue el más abundante en ambas fechas analizadas seguido del C18:3, como lo reportó anteriormente Macías-Rodríguez (2002). La concentración de los ácidos grasos C18:0, C18:1, C18:2 y C18:3 aumentó significativamente del nivel de fertilización de 0.3 mM hasta alcanzar un máximo en 3 mM N (1.25, 2.67, 5.70 y 3.24 mg·g⁻¹, respectivamente) y disminuyó a concentración de 6 y 18 mM N; en el caso de C16:0 durante el muestreo del 27 de Enero la máxima concentración se registró en 18 mM (2.03 mg/g) sin embargo para los frutos cosechados el 22 de Febrero la concentración aumentó significativamente en 3 mM (5.85 mg/g).

Tabla 11. Contenido de ácidos grasos ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. Valores promedio de cuatro repeticiones.

| Ácido graso | Nivel de fertilización (mM) | | | | | | | |
|--------------------|-----------------------------|-------|-------|-------|------------|--------|-------|-------|
| | 27 Enero | | | | 22 Febrero | | | |
| | 0.3 | 3 | 6 | 18 | 0.3 | 3 | 6 | 18 |
| Palmítico (C16:0) | 1.91ab | 1.78b | 1.63c | 2.03a | 5.44b | 5.85a | 2.60c | 2.40d |
| Estearico (C18:0) | 1.12b | 1.25a | 1.03c | 1.23a | 1.10a | 1.09a | 0.66b | 0.50c |
| Oleico (C18:1) | 2.03c | 2.67a | 1.96c | 2.30b | 4.17b | 5.00a | 2.21c | 2.03c |
| Linoleico (C18:2) | 4.10b | 5.70a | 3.68c | 4.21b | 9.55a | 10.74a | 4.30b | 3.02b |
| Linolénico (C18:3) | 2.29b | 3.24a | 1.92d | 2.20c | 5.50b | 6.15a | 2.70c | 2.25c |

^z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada ácido graso y fecha.

7.1.5 Compuestos volátiles

El análisis de compuestos volátiles identificados por SPME-CG-EM en fruto cosechado en invernadero mostró la presencia de nueve ácidos orgánicos, ocho aldehídos, seis cetonas, siete alcoholes, siete ésteres, siete lactonas y doce compuestos volátiles catalogados en otras familias químicas, entre los que se encuentran compuestos sulfurados y terpenos entre otros. En los materiales analizados se identificó un mayor número de ácidos orgánicos lo que deja ver que las notas ácidas caracterizan a esta variedad.

Como se observa en la Tabla 12, los compuestos volátiles de carácter ácido fueron más abundantes en los frutos cosechados el 27 de Enero, independientemente del nivel de fertilización lo que muestra que la primer fruta cosechada es más ácida que en las cosechas posteriores. La máxima acumulación alcanzada en la primer fecha analizada fue en 18 mM de nitrato (56.40%) mientras que para la segunda fecha la mayor concentración fue de 15.94% en el nivel de 3 mM.

Tabla 12. Contenido (%) de las principales familias de compuestos volátiles identificadas en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. Valores promedio de cuatro repeticiones.

| Familia | Nivel de fertilización (mM) | | | | | | | |
|-----------|-----------------------------|----------|---------|---------|-----------------|--------|---------|--------|
| | 27 Enero 2005 | | | | 22 Febrero 2005 | | | |
| | 0.3 | 3 | 6 | 18 | 0.3 | 3 | 6 | 18 |
| Ácidos | 52.30a | 53.12a | 28.23a | 56.40a | 13.60a | 15.94a | 13.15a | 14.15a |
| Alcoholes | 14.39ab | 17.58a | 15.38ab | 18.06a | 35.19a | 20.52b | 30.38a | 38.76a |
| Aldehídos | 15.80a | 1.30b | 0.72b | 3.39b | 6.81ab | 7.07ab | 9.33a | 6.29 b |
| Cetonas | 0.00b | 8.53ab | 9.75ab | 0.84ab | 18.50a | 17.34a | 20.30a | 19.47a |
| Ésteres | 4.17a | 7.63a | 7.14a | 6.73a | 6.91ab | 11.26a | 5.96 b | 4.24b |
| Lactonas | 5.66ab | 4.52abcd | 3.33bcd | 5.07abc | 5.96ab | 7.04a | 5.95ab | 3.91b |
| Otros | 4.38a | 3.19ab | 3.09ab | 3.93ab | 8.38 b | 15.43a | 11.69ab | 8.39b |

^z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada familia química y fecha.

En el caso de la familia de los alcoholes se observó que hubo una mayor acumulación el 22 de Febrero, aún cuando la mayores concentraciones fueron en el nivel más alto evaluado, 18 mM, para ambas fechas (18.06 y 38.76%, respectivamente).

Analizando la cuantificación total de los aldehídos, que fueron otros de los compuestos más abundantes, se observó que en los frutos pertenecientes al 27 de Enero la mayor acumulación se dió en el nivel de 0.3 mM (15.80%), mientras que para el 22 de Febrero fue en 6 mM (9.33%). Se identificaron y cuantificaron otros compuestos como las cetonas cuya concentración varió dependiendo del nivel de fertilización aplicado acumulándose en 6 mM de nitrato en ambas fechas analizadas (9.75 y 20.30%, respectivamente).

Con respecto a los ésteres se observó que su concentración total varió dependiendo del nivel de fertilización y para ambas fechas evaluadas la mayor acumulación se dió en la dosis

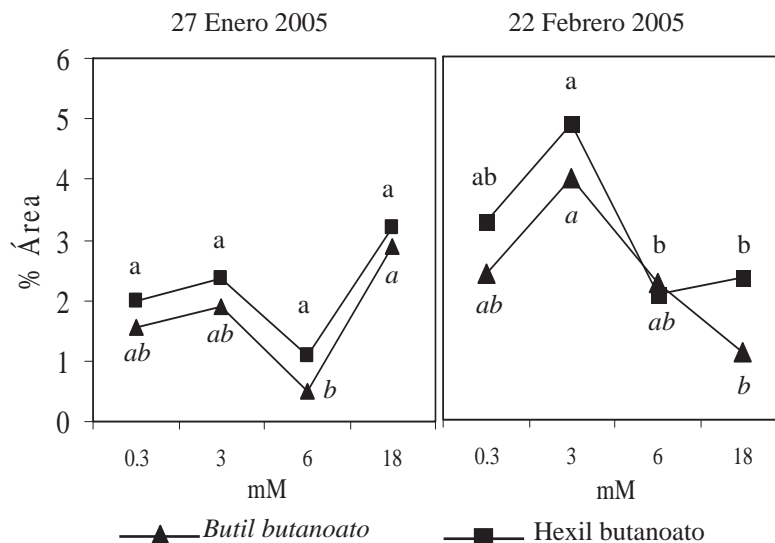
de 3 mM, siendo mayor para el 22 de Febrero a comparación del 27 de Enero (11.26 y 7.63%, respectivamente).

En el caso de los compuestos identificados como lactonas se observó que para el 27 de Enero la mayor acumulación de estos compuestos fue en 0.3 mM de nitrato (5.66%) mientras que para el 22 de Febrero fue en 3 mM (7.04%).

Azodanlou y col. (2003), establecieron que la calidad en la apreciación global del aroma de la fresa puede establecerse en base al contenido de ésteres, de los cuales los butanoatos son los biomarcadores que caracterizan el aroma de la fresa (Larsen y Poll, 1992).

En el presente estudio se encontraron estos biomarcadores, siendo los más abundantes el hexil butanoato y el butil butanoato (Figura 12), en la primer fecha analizada se observó para ambos compuestos, un aumento en la concentración en el nivel de 3 mM que posteriormente disminuyó en el nivel de 6 mM, para después alcanzar la mayor acumulación en 18 mM para ambos (3.20 y 2.89%, respectivamente) siendo significativa para el butil butanoato; éste comportamiento fue diferente el 22 de Febrero, donde se observó la mayor acumulación de ambos compuestos en 3 mM (4.90% para el hexil butanoato y 3.99% para el butil butanoato) que disminuyó significativamente en los niveles de 6 y 18 mM.

Figura 12. Contenido de butil butanoato y hexil butanoato como biomarcadores de calidad aromática en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica.

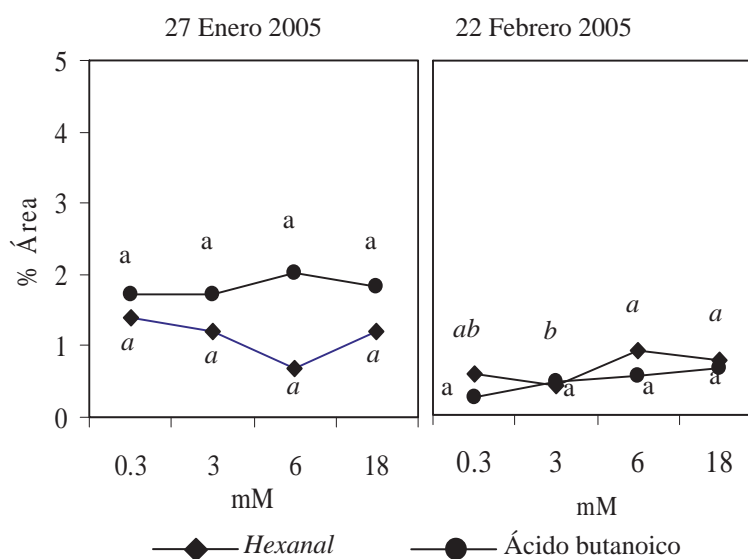


El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada compuesto y fecha. El análisis estadístico se realizó de manera independiente por fecha, puntos con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$.

Uno de los efectos importantes que se han observado en la aplicación excesiva de N en plantas de fresa es que existe un retraso marcado en la maduración del fruto (May y Pritts, 1990). Durante el proceso de maduración hay un cambio en el perfil de compuestos volátiles en el fruto, donde el estadio inmaduro se caracteriza por compuestos que pertenecen a la familia de los aldehídos como el hexanal y otros compuestos como los de carácter ácido que se consideran precursores de los ésteres de manera que la concentración de los aldehídos como la de los ácidos disminuyen al avanzar el estadio de madurez, mientras que el contenido de ésteres aumenta en el fruto (Azodanlou *et al.*, 2004). En este trabajo, se eligió al hexanal como biomarcador de madurez y también al ácido butanoico ya que éste es el principal precursor de los ésteres identificados, los butanoatos.

Como se observa en la Figura 13 en los frutos cosechados el 27 de Enero hubo una mayor concentración de hexanal y que aún cuando no fue significativo tendió a acumularse en los niveles de nitrógeno de 6 y 18 mM (1.38 y 1.20%, respectivamente), éste mismo comportamiento se observó para la segunda fecha evaluada, solo que la acumulación si fue significativa en estas mismas dosis (0.90 y 0.78%, respectivamente) con respecto al nivel de 3 mM (0.42%). En el caso del ácido butanoico se observó que en la primer fecha analizada la concentración tendió a disminuir al aumentar el nivel de fertilización teniendo su nivel más bajo en 6 mM (1.73%); mientras que en los frutos del 22 de Febrero se observó que la concentración tendió a aumentar conforme la dosis de N aplicada fue aumentando alcanzando el máximo en 18 mM (0.67%).

Figura 13. Contenido de Hexanal y Ácido butanoico como biomarcadores de madurez identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica.



El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada compuesto y fecha. El análisis estadístico se realizó de manera independiente por fecha, puntos con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$.

Los resultados del análisis de los biomarcadores de madurez deja ver que, efectivamente los frutos provenientes de plantas fertilizadas a dosis excesivas (18 mM) se vieron caracterizadas en su perfil aromático por aquellos compuestos que se han reportado como más abundantes en frutos inmaduros.

En la Tabla 13 se muestran el resto de los compuestos volátiles identificados donde se observó que otros ácidos identificados el acético, 2-metil butanoico y el hexanoico. En la primer fecha analizada se observó que las concentraciones de los ácidos acético, 2-metil propanoico y 2-metil butanoico aumentaron significativamente en el nivel de 3 mM con respecto a 0.3 mM, no así para el ácido hexanoico donde la mayor acumulación fue en 6 mM. Para los frutos cosechados el 22 de Febrero, la concentración máxima de los ácidos acético y 2-metil propanoico fue en 18 mM, mientras que para el 2-metil butanoico fue en 6 mM y en el caso de los y butanoico. En ésta fecha, aún cuando la concentración total de ácidos fue menor que en la fecha anterior, se detectó la presencia de los ácidos 2-etil hexanoico, heptanoico y hexadecanoico, los cuales no se observaron en la fecha anterior y cuya mayor acumulación fue en 0.3 mM.

Tabla 13. Contenido (%) de otros compuestos volátiles identificadas en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha y cultivada en invernadero a diferentes niveles de fertilización nítrica. Valores promedio de cuatro repeticiones

| | Nivel de fertilización (mM) | | | | | | | |
|-----------------------------|-----------------------------|---------|---------|---------|-----------------|---------|---------|--------|
| | 0.3 | 3 | 6 | 18 | 0.3 | 3 | 6 | 18 |
| | 27 Enero 2005 | | | | 22 Febrero 2005 | | | |
| ÁCIDOS | | | | | | | | |
| Acético | 6.46 b ^z | 11.47 a | 8.55 ab | 9.32 ab | 6.69 a | 9.04 a | 7.90 a | 9.53 a |
| 2-Metil propanoico | 0.89 a | 1.20 a | 0.86 a | 1.06 a | 0.00 a | 0.12 a | 0.05 a | 0.22 a |
| 2-Metil butanoico | 4.34 b | 8.33 a | 5.70 ab | 7.80 ab | 1.46 ab | 1.79 a | 2.27 b | 0.92 b |
| Hexanoico | 10.72 a | 11.73 a | 12.97 a | 12.12 a | 4.33 a | 3.06 ab | 2.03 bc | 1.47 c |
| 2-Etil hexanoico | n.i | n.i | n.i | n.i | 0.08 a | 0.00 a | 0.08 a | 0.06 a |
| Heptanoico | n.i | n.i | n.i | n.i | 0.23 a | 0.00 b | 0.08 a | 0.10 a |
| Octanoico | 0.45 a | 0.34 a | 0.44 a | 0.42 a | 0.57 a | 0.08 b | 0.27 b | 0.11 b |
| Hexadecanoico | n.i | n.i | n.i | n.i | 0.00 a | 0.00 a | 0.34 a | 0.76 a |
| ALDEHÍDOS | | | | | | | | |
| Acetaldehído | 0.23 a | 0.26 a | 0.77 a | 0.48 a | 0.71 ab | 0.61 b | 0.57 b | 1.58 a |
| 3-Metil butanal | 0.00 a | 0.00 a | 0.05 a | 0.04 a | 0.00 a | 0.00 a | 0.45 a | 0.44 a |
| Heptanal | 0.00 a | 0.00 a | 0.09 a | 0.09 a | 0.54 a | 0.16 b | 0.46 a | 0.26 b |
| Furfural | 1.23 a | 0.73 a | 0.84 a | 1.10 a | 3.75 a | 4.40 a | 4.22 a | 2.75 a |
| Decanal | 0.97 ab | 0.58 b | 0.79 ab | 1.37 a | 1.06 ab | 1.22 a | 1.13 a | 0.25 b |
| Bencen acetaldehído | n.i | n.i | n.i | n.i | 0.00 a | 0.27 a | 0.64 a | 0.23 b |
| (E)-2-Decenal | 0.58 ab | 0.00 b | 0.21 ab | 0.89 a | 0.00 a | 0.00 a | 0.36 a | 0.00 a |
| Continuación... | | | | | | | | |
| Nivel de fertilización (mM) | | | | | | | | |

| | 0.3 | 3 | 6 | 18 | 0.3 | 3 | 6 | 18 |
|--|---------------------|---------|---------|---------|-----------------|--------|----------|---------|
| | 27 Enero 2005 | | | | 22 Febrero 2005 | | | |
| ALCOHOLES | | | | | | | | |
| Etanol | 17.56 a | 15.70 a | 23.91 a | 11.33 a | 18.76 ab | 8.84 b | 18.41 ab | 27.68 a |
| 2-Butil-1-octanol | 0.00 a | 0.00 a | 0.00 a | 0.21 a | 0.00 a | 0.16 a | 0.37 a | 0.00 a |
| 1-Dodecanol | n.i | n.i | n.i | n.i | 0.83 ab | 0.00 b | 1.56 a | 0.11 b |
| Bencil alcohol | 0.72 b | 1.14 ab | 1.26 ab | 1.70 a | 0.00 b | 2.44 a | 2.24 a | 1.63 a |
| Fenil etil alcohol | 0.22 b | 0.52 b | 0.47 b | 1.13 a | 0.21 a | 1.45 a | 1.74 a | 1.24 a |
| 2-Fenoxi-etanol | 1.26 a | 0.53 a | 1.81 a | 0.98 a | 5.42 a | 1.38 b | 1.65 b | 1.79 b |
| <i>p</i> -tert-butil-fenol | 4.03 a | 0.70 b | 1.71 b | 2.77 ab | 9.97 a | 6.25 a | 4.41 a | 6.31 a |
| ÉSTERES | | | | | | | | |
| Etil butanoato | 0.05 a | 0.62 a | 0.32 ab | 0.52 a | n.i | n.i | n.i | n.i |
| 2-Metil etil butanoato | 0.00 b | 0.50 a | 0.23 ab | 0.44 a | 0.00 b | 0.00 b | 0.07 ab | 0.22 a |
| Decil butanoato | 0.39 a | 0.00 a | 0.09 a | 0.07 a | 0.00 a | 0.00 b | 0.06 b | 0.00 b |
| 2,2,4-Trimetil-1,3-pentanediol diisobutirato | 0.62 ab | 0.58 ab | 0.24 b | 0.99 a | 1.22 ab | 2.01 a | 1.24 b | 0.49 b |
| 2-Etil butil isobutirato | 0.21 b | 0.14 b | 0.23 b | 0.91 a | 0.00 a | 0.09 a | 0.05 a | 0.04 a |
| LACTONAS | | | | | | | | |
| Butirolactona | 2.54 a ^z | 0.97 a | 1.23 b | 1.52 b | 1.41 a | 1.83 a | 2.83 a | 1.85 a |
| τ Caprolactona | 1.38 a | 0.51 b | 0.86 ab | 0.90 ab | 0.00 c | 0.64 a | 0.42 ab | 0.11 bc |
| Pantolactona | 0.13 ab | 1.02 a | 0.00 b | 0.00 b | 0.00 a | 0.58 a | 0.00 a | 0.65 a |
| τ Decalactona | 2.97 b | 7.14 a | 5.10 ab | 5.05 ab | 1.82 a | 1.72 a | 1.24 ab | 0.55 b |
| γ Caprolactona | 4.04 a | 2.45 a | 2.85 a | 2.37 a | 1.72 ab | 2.27 a | 1.36 b | 0.76 b |
| γ Valerolactona | 0.00 a | 0.00 a | 0.05 a | 1.52 a | 1.01 a | 0.00 b | 0.00 b | 0.00 b |
| τ Butirolactona | 0.00 b | 0.10 ab | 0.35 a | 0.00 b | n.i | n.i | n.i | n.i |

Continuación... Nivel de fertilización (mM)

| | 0.3 | 3 | 6 | 18 | 0.3 | 3 | 6 | 18 |
|--|---------------|---|---|----|-----------------|---|---|----|
| | 27 Enero 2005 | | | | 22 Febrero 2005 | | | |

OTROS COMPUESTOS

| | | | | | | | | |
|---|---------------------|---------|---------|---------|----------|---------|---------|---------|
| 2,3-Butanedione | 7.63 a ^z | 6.91 a | 6.38 a | 5.13 a | 0.00 a | 4.24 a | 2.47 a | 3.26 a |
| 2-Pentanone | n.i | n.i | n.i | n.i | 2.93 a | 0.00 b | 1.14 ab | 0.00 b |
| 4-Metil-1-penten-3-one | 0.39 a | 0.00 b | 0.00 b | 0.00 b | 0.63 a | 0.00 b | 0.04 b | 0.08 b |
| 2-Metil 1-penten-3-one | 0.08 a | 0.00 a | 0.00 a | 0.00 a | 0.00 ab | 0.00 ab | 0.08 ab | 0.25 a |
| (E)-3-Penten-2-one | 1.24 a | 0.77 a | 2.27 a | 1.56 a | 1.38 a | 3.35 a | 1.62 a | 0.84 a |
| 4-Hidroxy-4-metil 2-Pentanone | 2.91 a | 0.00 b | 0.00 b | 0.00 b | 13.04 ab | 9.51 b | 14.21 a | 14.52 a |
| Etanetiol | 0.09 a | 0.00 a | 0.00 a | 0.10 a | 0.50 a | 0.00 a | 0.13 a | 0.12 a |
| Sulfuro de dimetilo | 0.19 a | 0.06 a | 0.31 a | 0.20 a | 0.00 b | 0.47 ab | 0.82 a | 0.93 a |
| 2H-Piran-2,6(3H)-dione | 3.71 a | 2.16 ab | 3.22 ab | 1.40 b | 1.09 b | 5.69 a | 3.76 ab | 3.46 ab |
| β Linalol | 0.90 a | 1.22 a | 1.10 a | 0.82 a | 0.85 a | 2.15 a | 1.77 a | 1.20 a |
| Mirtenol | 0.00 b | 0.91 a | 0.25 ab | 0.54 ab | 0.00 b | 1.11 a | 1.24 a | 0.40 b |
| Nerolidol | 2.33 b | 3.73 ab | 4.89 ab | 5.70 a | 5.22 a | 4.69 a | 2.02 ab | 1.08 b |
| (E)- Geranilacetona | 0.43 a | 0.54 a | 0.44 a | 0.64 a | 0.65 a | 0.69 a | 0.71 a | 0.46 a |
| L-Homocitrulina | 0.26 a | 0.07 b | 0.00 b | 0.00 b | 0.00 a | 0.00 a | 0.19 a | 0.00 a |
| 2,5-Dimethyl- 4-methoxy-3(2H)-Furanona (mesifurano) | 1.52 a | 0.19 b | 0.36 b | 0.50 b | 0.00 a | 0.00 a | 0.09 a | 0.00 a |
| α Terpinelol | 0.27 a | 0.00 b | 0.00 b | 0.18 ab | 0.06 a | 0.00 a | 0.28 a | 0.16 a |
| Eugenol | 0.00 b | 0.00 b | 0.10 ab | 0.34 a | 0.00 a | 0.00 a | 0.16 a | 0.41 a |
| Hidroxilinalol | 0.00 a | 0.06 a | 0.06 a | 0.13 a | 0.00 a | 0.00 a | 0.02 a | 0.00 a |

^z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada familia química y fecha.

El proceso de maduración es caracterizado por una disminución en el contenido de ácidos y el aumento en la concentración de azúcares solubles y de compuestos responsables del aroma como los pertenecientes a la familia de los ésteres (Azodanlou *et al.*, 2003), este proceso es influenciado principalmente por la temperatura (Shaw, 1988), así que en los frutos colectados durante el mes de Enero era de esperar un alto contenido de ácidos por una maduración lenta a consecuencia de las bajas temperaturas que caracterizan esa temporada, además es interesante observar que la fertilización también afectó la maduración puesto que en la segunda fecha la mayor acumulación de ácidos se dió en las dosis de 0.3 y 18 mM lo que coincide con lo que se reporta sobre el retraso en la maduración de frutos cuando existe deficiencia o exceso de nitrógeno en el cultivo de fresa.

En cuanto a los aldehídos se identificaron aquellos reportados por Yamashita *et al.* (1976) como importantes en el aroma de la fresa. En los frutos cosechados el 27 de Enero la mayor acumulación del furfural (2-Furancarboxaldehído) se dio en 0.3 mM, mientras que el decanal y (*E*)-2-decenal fue en 18 mM. Para los frutos cosechados el 22 de Febrero la mayor acumulación de la mayoría de los aldehídos cuantificados se dió en los niveles intermedios de nitrato (3 y 6 mM).

En el caso de los alcoholes, que son los productos de la oxidación de los aldehídos, se observó que en ambas fechas analizadas la mayor concentración fue en el nivel de 18 mM (18.06 y 38.76%, respectivamente) y que aunque esta familia de compuestos no es de las principales en el aroma de la fresa, si esta relacionada con la formación de etil ésteres, como es el caso del etanol que fue el más abundante en nuestros análisis y que tendió a acumularse más en la dosis de 6 mM en los frutos del 27 de Enero y en 18 mM para el 22 de Febrero (23.91 y 27.68%, respectivamente); también se identificó el bencíl alcohol que en los frutos

del 27 de Enero se acumuló más en 18 mM y para el 22 de Febrero fue en 3 mM (1.70 y 2.44%, respectivamente) y el 1-dodecanol que solo se logró cuantificar en la segunda fecha analizada con una mayor acumulación en 9 mM (1.56%). Como ya se ha mencionado anteriormente tanto los ácidos, como los aldehídos y alcoholes son los precursores de los ésteres pero también en cierta medida participan directamente con el sabor y aroma de la fresa, además de que su acumulación es característica de los frutos inmaduros, esto puede explicar que la mayoría de ellos se acumulen en los niveles de 0.3 y 18 mM donde el proceso de maduración se retrasa por efecto del estado metabólico de la planta que ocasiona la deficiencia o el exceso de nitrógeno.

De los ésteres identificados y cuantificados se encontraron también al etil y 2-metil etil butanoatos que han sido reportados como compuestos que caracterizan el aroma de esta fruta (Zabetakis y Holden, 1997). Para el caso de los frutos cosechados el 27 de Enero se observó que el etil butanoato y el 2-metil etil butanoato se acumularon principalmente en el nivel 3 mM; pero para los frutos analizados de la segunda fecha el comportamiento fue diferente ya que el etil butanoato no se detectó y la mayor acumulación para el 2-metil etil butanoato fue en 18 mM (0.22%). La variación en las concentraciones encontrada en los ésteres identificados con respecto a los niveles de fertilización evaluados, hace pensar que la apreciación del aroma de la fresa se afectó ya que esta familia de compuestos es considerada la responsable de las notas aromáticas características de las fresas.

Es importante destacar que se identificó al mesifurano que es un compuesto que a pesar de ser de los menos abundantes influyen en gran medida en el aroma global de la fresa; este compuesto se acumuló más en la primer fecha analizada y la máxima concentración fue en 0.3 mM (1.52%) disminuyendo significativamente en el resto de los niveles evaluados; otro

compuesto a destacar es el mirtenol que se considera un marcador molecular en los frutos de fresa silvestre, cuyo contenido se vió favorecido en los niveles de 3 y 6 mM en el análisis de la primera y segunda fecha de cosecha respectivamente.

La cuantificación de los compuestos que pertenecen a la familia de los terpenos (el linalol, hidroxilinalol, nerolidol, etc) o compuestos sulfurados como el metanetiol y el sulfuro de dimetilo también han sido reportados como compuestos impacto en el aroma global de la fresa y el análisis cuantitativo de sus concentraciones mostró que los niveles de fertilización nítrica influyen de forma diversa en ellas.

7.2 Resultados obtenidos en el fruto de fresa var. Aromas analizado en dos fechas de cosecha y cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego

7.2.1 Carbohidratos

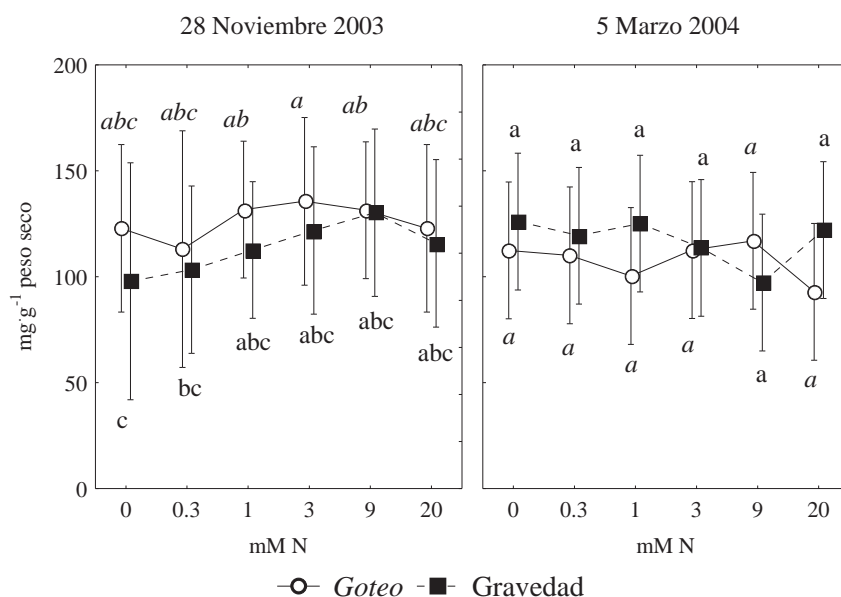
La dulzura es un importante atributo de la fresa, el cual se ha relacionado directamente con el contenido de carbohidratos como lo son principalmente la glucosa, fructosa y sacarosa (Macías-Rodríguez *et al.*, 2002).

El análisis de los carbohidratos de los frutos cosechados en campo indicó que los compuestos más abundantes fueron fructosa y glucosa, lo que coincide con lo reportado por Pérez y col. (1997), además se identificó la presencia de ribosa, arabinosa, xilosa, manosa, galactosa y *myo*-inositol.

En la Figura 15 se muestra el contenido de carbohidratos libres totales en los dos picos de producción. En la primer fecha los resultados no mostraron una diferencia significativa

entre los niveles de N, ni entre los sistemas de riego, sin embargo se encontró una tendencia a alcanzar su máxima concentración en 3 mM de nitrato para riego por goteo, mientras que para gravedad se observó en 9 mM. Con lo que respecta a la segunda fecha analizada no hubo diferencias en el contenido de carbohidratos ni se encontró la tendencia presente en la fecha anterior. Estos resultados dejan ver que a niveles altos de N, no se obtiene una mayor concentración de azúcares en el fruto.

Figura 14. Contenido de carbohidratos libres totales en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego: goteo y gravedad.

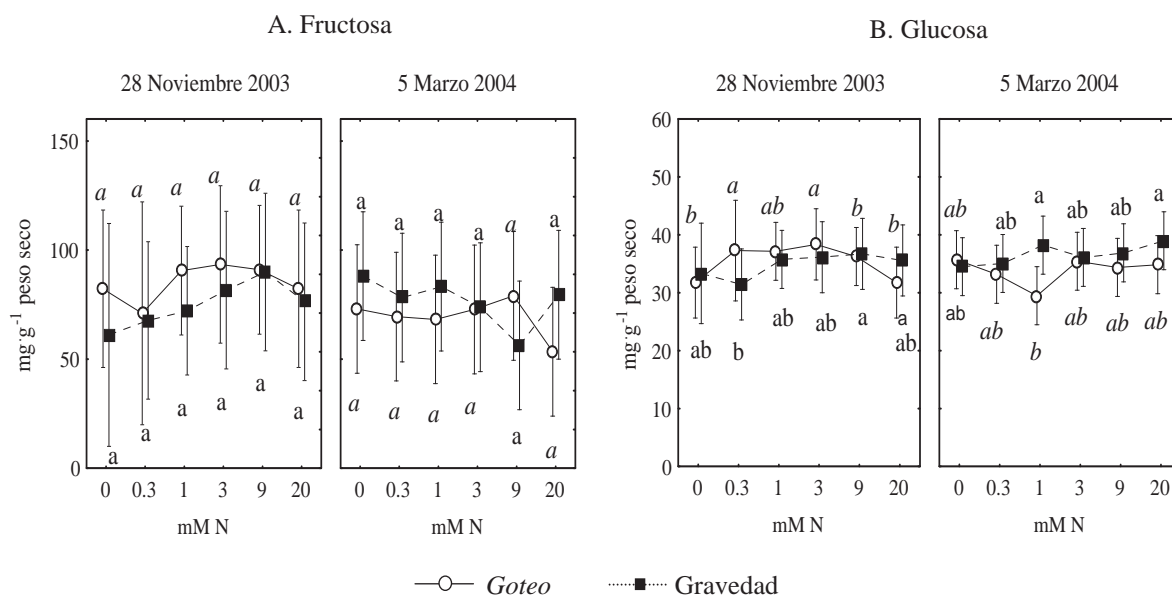


Cada punto representa la media de tres repeticiones \pm desviación estándar. El análisis estadístico se realizó de manera independiente por fecha, puntos con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$.

Se ha observado que existe una relación estrecha entre el contenido de fructosa y percepción del sabor dulce de la fresa, el análisis estadístico mostró que para el caso de la fructosa no hubo diferencia significativa entre niveles de fertilización y formas de riego; sin

embargo se pudo observar que en el muestreo del 28 de Noviembre en ambos sistemas de riego hubo una tendencia a alcanzar un mayor contenido de fructosa (93.41 mg·g⁻¹ en goteo y 89.92 mg·g⁻¹ en gravedad) a dosis de 3 mM y 9 mM de nitrato respectivamente, que disminuyó en la dosis de 20 mM de nitrato (82.26 mg·g⁻¹ en goteo y 76.3 mg·g⁻¹ en gravedad) (Figura 16A). Así mismo en la fecha del 5 de Marzo en riego por goteo el contenido de fructosa se incrementó de manera no significativa en la dosis 9mM (79.04 mg·g⁻¹), que también tendió a disminuir en el nivel de 20 mM de N (53.42 mg·g⁻¹). En el caso de riego por gravedad no se detectó una tendencia respecto a los diferentes niveles de fertilización.

Figura 15. Contenido de fructosa (A) y glucosa (B) en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego: goteo y gravedad.



Cada punto representa la media de tres repeticiones \pm desviación estándar. El análisis estadístico se realizó de manera independiente por fecha, puntos con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$.

Otro carbohidrato importante es la glucosa, la cual da origen a diversos compuestos como los pertenecientes a la familia de las furanonas que forman parte del aroma de la fresa; en el análisis de este compuesto se observó que en la fecha del 28 de Noviembre en sistema de riego por goteo hubo una diferencia en el contenido de glucosa entre la dosis de 0.3 y 3 mM (37.16 y 38.36 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente) con respecto a las dosis de 0, 9 y 20 mM de nitrato, mientras que en el riego por gravedad la diferencia fue entre la concentración máxima alcanzada en el nivel de 9 mM (36.73 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) y 0.3 mM (31.43 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$). En la fecha del 5 de Marzo se observó que el contenido de glucosa fue similar con respecto a ambos sistemas de riego y niveles de fertilización a excepción de que en el nivel de 1 mM de nitrato en riego por gravedad la concentración de glucosa aumentó a 38.25 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ pero sin ser significativo (Figura 16B).

Carbohidratos como las pentosas son componentes importantes durante el desarrollo de la planta; como se muestra en la Tabla 14, el análisis de su cuantificación mostró que la ribosa en la primer fecha de cosecha analizada presentó una diferencia mínima significativa en el fruto cultivado por goteo en 3 mM respecto a 0 mM, mientras que en riego por gravedad fue en el mismo nivel pero sin ser significativa, para esta misma pentosa pero en los frutos cosechados el 5 de Marzo se observó que la concentración máxima alcanzada para goteo fue en 20 mM y para riego por gravedad fue en 1 mM de nitrato. En el caso de la arabinosa se observó una tendencia no significativa a alcanzar su mayor concentración en 0.3 mM en ambos riegos para la fecha del 28 de noviembre y para la del 5 de marzo las máximas concentraciones se alcanzaron en 9 mM tanto para riego por goteo como para gravedad. La concentración de xilosa, en el primer pico de producción, alcanzó su máximo a 1 y 20 mM en sistema de riego por gravedad y goteo respectivamente, pero para la segunda fecha analizada

la máxima acumulación fue en los niveles de fertilización 0.3 y 20 mM. Con lo observado respecto al contenido de pentosas (ribosa, arabinosa y xilosa) se sugiere que la fertilización nitrogenada puede influenciar el metabolismo de las pentosas en las plantas de fresa el cual es crucial para la biosíntesis de L-arabinos y D-xilanos, quienes estarían participando en la formación de rizomas, hojas, raíces y fruto (Luckner, 1990).

Tabla 14. Contenido de pentosas ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificadas en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego: goteo y gravedad. Valores promedio de tres repeticiones.

| mM N | Fecha de cosecha | | | |
|------|-----------------------|----------|--------------|-----------|
| | 28 Noviembre 2003 | | 5 Marzo 2004 | |
| | RIBOSA | | | |
| | Gravedad | Goteo | Gravedad | Goteo |
| 0 | 0.10 abc ^Z | 0.06 c | 0.20 ab | 0.13 ab |
| 0.3 | 0.09 bc | 0.11 abc | 0.16 ab | 0.06 b |
| 1 | 0.13 abc | 0.16 ab | 0.23 a | 0.21 ab |
| 3 | 0.13 abc | 0.19 a | 0.10 ab | 0.17 ab |
| 9 | 0.07 bc | 0.10 abc | 0.20 ab | 0.11 ab |
| 20 | 0.07 bc | 0.11 abc | 0.15 ab | 0.24 a |
| | ARABINOSA | | | |
| 0 | 2.07 a | 1.52 a | 1.50 a | 1.82 a |
| 0.3 | 2.66 a | 3.37 a | 1.59 a | 2.31 a |
| 1 | 2.34 a | 1.97 a | 1.49 a | 1.34 a |
| 3 | 2.13 a | 1.84 a | 1.84 a | 1.49 a |
| 9 | 1.93 a | 2.09 a | 2.01 a | 2.72 a |
| 20 | 2.45 a | 1.52 a | 1.93 a | 1.72 a |
| | XILOSA | | | |
| 0 | 0.56 bc | 0.68 bc | 0.56 cd | 0.68 abcd |
| 0.3 | 0.30 c | 0.25 bc | 1.15 ab | 0.28 d |
| 1 | 0.76 ab | 0.72 bc | 0.94 abc | 0.60 bcd |
| 3 | 0.39 bc | 0.73 abc | 0.94 abc | 0.62 abcd |
| 9 | 0.56 bc | 0.42 bc | 0.73 abcd | 0.84 abcd |
| 20 | 0.45 bc | 1.16 a | 0.78 abcd | 1.21 a |

^Z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada carbohidrato y fecha.

En la Tabla 15 se muestran los resultados obtenidos en la cuantificación del resto de los carbohidratos que fueron identificados en los frutos cosechados en las dos fechas seleccionadas. En ambas fechas y ambos sistemas de riego evaluados, la manosa tendió a acumularse en el nivel de 1 mM a excepción de la segunda fecha de cosecha en riego por goteo donde se acumuló significativamente en 20 mM. En el caso de galactosa tendió a acumularse principalmente en 1 y 3 mM, excepto en la primer fecha en riego por goteo donde se acumuló significativamente en 9 mM y para el caso del *myo*-inositol su análisis mostró una tendencia no significativa a alcanzar su mayor concentración en 9 mM, sin ser así para la primer fecha evaluada en riego por goteo donde alcanza una concentración máxima no significativa en 9 mM.

Tabla 15. Contenido de otros carbohidratos ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego: goteo y gravedad. Valores promedio de tres repeticiones.

| mM N | Fecha de cosecha | | | |
|--------------|---------------------|---------|--------------|---------|
| | 28 Noviembre 2003 | | 5 Marzo 2004 | |
| | MANOSA | | | |
| | Gravedad | Goteo | Gravedad | Goteo |
| 0 | 0.23 a ^z | 0.34 a | 0.38 ab | 0.49 ab |
| 0.3 | 0.59 a | 0.41 a | 0.26 b | 0.20 b |
| 1 | 1.10 a | 0.58 a | 0.39 ab | 0.33 ab |
| 3 | 0.56 a | 0.51 a | 0.37 ab | 0.43 ab |
| 9 | 0.38 a | 0.37 a | 0.18 b | 0.42 ab |
| 20 | 0.38 a | 0.34 a | 0.20 b | 0.91 a |
| GALACTOSA | | | | |
| 0 | 0.05 ab | 0.09 b | 0.08 a | 0.09 a |
| 0.3 | 0.08 b | 0.08 ab | 0.04 a | 0.08 a |
| 1 | 0.10 b | 0.10 b | 0.09 a | 0.08 a |
| 3 | 0.09 b | 0.09 ab | 0.09 a | 0.09 a |
| 9 | 0.093 ab | 0.39 a | 0.08 a | 0.08 a |
| 20 | 0.07 b | 0.11 ab | 0.06 a | 0.07 a |
| myo-INOSITOL | | | | |
| 0 | 0.35 a | 0.48 a | 0.50 ab | 0.50 ab |
| 0.3 | 0.49 a | 0.52 a | 0.43 ab | 0.46 ab |
| 1 | 0.44 a | 0.41 a | 0.49 ab | 0.27 b |
| 3 | 0.47 a | 0.49 a | 0.40 ab | 0.55 ab |
| 9 | 0.54 a | 0.49 a | 0.88 a | 0.63 ab |
| 20 | 0.44 a | 0.48 a | 0.50 ab | 0.62 ab |

^z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada carbohidrato y fecha.

7.2.2 Aminoácidos

Los aminoácidos son constituyentes importantes en el funcionamiento bioquímico de las plantas, pero además se sabe que son precursores de compuestos volátiles como aldehídos y ésteres que caracterizan el delicioso sabor y aroma de la fresa, también es de hacer notar que además de ser agradable al gusto y al olfato, la composición química de este fruto le proporciona un alto valor nutritivo. El análisis de aminoácidos mostró que al igual que en la

mayoría de las plantas, el glutamato/glutamina (glu/gln) y aspartato/asparagina (asp/asn), fueron los compuestos más abundantes en los materiales analizados. Otros aminoácidos como glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, treonina, serina, fenilalanina, tirosina y lisina también fueron identificados.

En la Tabla 16, se muestra el contenido de aminoácidos libres totales cuantificados en los frutos colectados en campo y se observó que en la fecha representativa del segundo pico de producción existió una mayor acumulación de aminoácidos, esto podría deberse a que en el segundo pico de producción la planta ha terminado ya su crecimiento vegetativo y concentra los aminoácidos disponibles en el fruto. En el primer pico de producción (28 de Noviembre) la mayor acumulación de aminoácidos libres totales en el fruto se dio en el nivel de fertilización de 20 mM en el sistema de riego por gravedad pero no así para el sistema de riego por goteo que tuvo su máxima acumulación en el nivel de fertilización de 9 mM. En el segundo pico de producción, fue interesante observar que en esta fecha la mayor acumulación de aminoácidos en el fruto se presentó en el nivel de fertilización de 9 mM de N para ambos sistemas de riego.

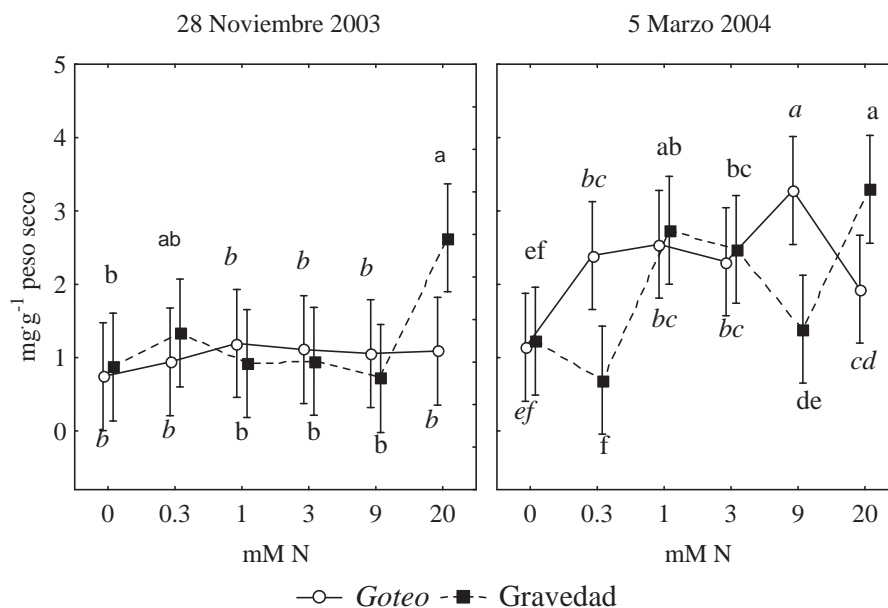
Tabla 16. Contenido de aminoácidos libres totales ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego: goteo y gravedad. Valores promedio de tres repeticiones.

| mM N | Fecha de cosecha | | | |
|------|---------------------|-----------|--------------|----------|
| | 28 Noviembre 2003 | | 5 Marzo 2004 | |
| | Gravedad | Goteo | Gravedad | Goteo |
| 0 | 3.61 d ^Z | 4.04 cd | 9.98 abcd | 5.40 ef |
| 0.3 | 5.98 abcd | 4.18 bcd | 5.23 f | 7.72 de |
| 1 | 6.26 abc | 5.90 abcd | 7.63 de | 9.42 bcd |
| 3 | 4.68 bcd | 6.21 abc | 10.45 abc | 9.60 bcd |
| 9 | 5.20 bcd | 6.68 ab | 12.09 a | 10.93 ab |
| 20 | 8.06 a | 5.72 abcd | 9.40 bcd | 8.28 cd |

^Z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada aminoácido y fecha.

Anteriormente se habló del valor nutricional de la fresa así que se analizó este aspecto en términos de acumulación de aminoácidos esenciales. En la Figura 17 se muestra el valor nutritivo de los frutos analizados, en la primer fecha de cosecha se observó que la concentración se incrementó significativamente en el nivel 20 mM de N en el sistema por gravedad ($2.63 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) y en el de goteo ($1.09 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$). En el caso de la segunda fecha de cosecha, la mayor concentración de aminoácidos esenciales se obtuvo en los niveles 20 mM por gravedad ($3.295 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) y en 9 mM en riego por goteo ($3.279 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$).

Figura 16. Contenido de aminoácidos esenciales libres totales (isoleucina, leucina, fenilalanina y treonina) en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego: goteo y gravedad.



Cada punto representa la media de tres repeticiones \pm desviación estándar. El análisis estadístico se realizó de manera independiente por fecha, puntos con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$.

De forma específica, los aminoácidos esenciales fenilalanina y treonina, en el primer pico de producción, alcanzaron su concentración máxima en el nivel de 20 mM en el sistema de riego por gravedad, mientras que en el segundo pico el comportamiento para la treonina fue diferente ya que su concentración en este mismo sistema de riego disminuyó en 20 mM y alcanzó su valor máximo en 1 mM ($1,628 \text{ mg g}^{-1}$); por su parte la fenilalanina mantuvo su concentración máxima a 20 mM ($1,455 \text{ mg g}^{-1}$). Al analizar los resultados obtenidos para la lisina parece que fue uno de los aminoácidos más influenciados por la fecha de cosecha ya que durante el 28 de noviembre al aplicar riego por gravedad o goteo la máxima concentración se dio en los niveles bajos de nitrato evaluados (0.3 y 1 mM, respectivamente), mientras que para

la cosecha del 5 de Marzo las máximas concentraciones se lograron en 20 mM y 9 mM en riego por gravedad y goteo, respectivamente (Tabla 17).

Tabla 17. Contenido de aminoácidos esenciales (mg g^{-1} peso seco) identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego: goteo y gravedad. Valores promedio de tres repeticiones.

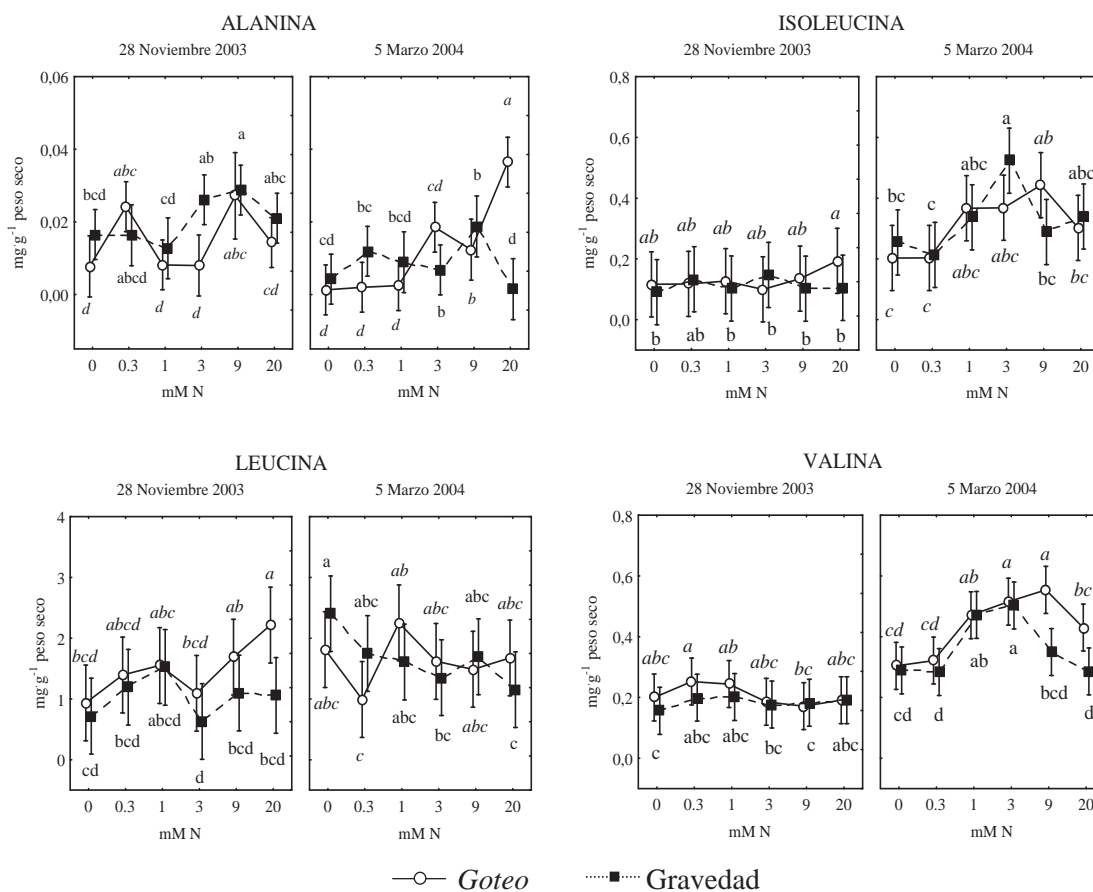
| mM N | Fecha de cosecha | | | |
|------|----------------------|----------|--------------|----------|
| | 28 Noviembre 2003 | | 5 Marzo 2004 | |
| | FENILALANINA | | | |
| | Gravedad | Goteo | Gravedad | Goteo |
| 0 | 0.24 ab ^Z | 0.15 bcd | 0.40 bcd | 0.45 bcd |
| 0.3 | 0.19 abc | 0.16 bc | 0.09 e | 0.39 bcd |
| 1 | 0.07 de | 0.14 cd | 0.18 de | 0.45 bcd |
| 3 | 0.12 cde | 0.16 bc | 0.29 cde | 0.48 bc |
| 9 | 0.07 de | 0.20 abc | 0.36 bcde | 0.65 b |
| 20 | 0.27 a | 0.036 e | 1.46 a | 0.24 cde |
| | TREONINA | | | |
| 0 | 0.33 b | 0.32 b | 0.09 c | 0.14 c |
| 0.3 | 0.47 b | 0.26 b | 0.19 c | 1.14 b |
| 1 | 0.32 b | 0.39 b | 1.63 a | 1.41 ab |
| 3 | 0.28 b | 0.46 b | 1.25 ab | 1.11 b |
| 9 | 0.26 b | 0.48 b | 0.46 c | 1.49 ab |
| 20 | 1.91 a | 0.61 ab | 0.39 c | 1.18 ab |
| | LISINA | | | |
| 0 | 0.15 ef | 0.08 f | 0.45 bc | 0.25 cd |
| 0.3 | 0.47 a | 0.27 cde | 0.13 d | 0.54 b |
| 1 | 0.33 bcd | 0.43 ab | 0.46 bc | 0.21 cd |
| 3 | 0.38 abc | 0.30 bcd | 0.44 bc | 0.20 cd |
| 9 | 0.21 def | 0.21 def | 0.22 cd | 0.59 b |
| 20 | 0.27 cde | 0.26 cde | 1.16 a | 0.08 d |

^Z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada aminoácido y fecha.

Los aminoácidos con sus estructuras hidrocarbonadas diversas son precursores de metabolitos secundarios como los compuestos volátiles, tal es el caso de la alanina, leucina, isoleucina y valina. En primera instancia se observó que la concentración de los aminoácidos

alanina y leucina fue afectada en ambas fechas de cosecha al aplicar diferentes niveles de fertilización nítrica mientras que la acumulación de isoleucina y valina solo varió de forma significativa en los frutos analizados del 5 de Marzo (Figura 18).

Figura 17. Contenido de aminoácidos precursores de compuestos volátiles en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego: goteo y gravedad.



Cada punto representa la media de tres repeticiones \pm desviación estándar. El análisis estadístico se realizó de manera independiente por fecha, puntos con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$.

La cuantificación de cada uno de estos aminoácidos mostró que en los frutos cosechados el 28 de Noviembre, la concentración de alanina aumentó significativamente en

gravedad a 9 mM de nitrato mientras que en goteo se observó en 0.3 mM y 9 mM (0.2 y 0.03 mg·g⁻¹, respectivamente). En el caso de leucina, la mayor acumulación al aplicar riego por gravedad se dió en el nivel de 1 mM de nitrato (1.52 mg·g⁻¹) y para goteo fue hasta el nivel de 20 mM (2.22 mg·g⁻¹), en esta misma fecha la concentración de isoleucina y valina tendió a disminuir conforme aumentó el nivel de fertilización a excepción de isoleucina en riego por goteo que tendió a aumentar en 20 mM pero sin ser significativo.

En los frutos cosechados el 5 de Marzo, la concentración máxima de alanina se dió en 3 y 20 mM (0.02 y 0.04 mg·g⁻¹, respectivamente) aplicando riego por goteo y para riego por gravedad fue en 0.3 mM y 9 mM (0.01 y 0.02 mg·g⁻¹, respectivamente); en el caso de leucina, ésta se acumuló significativamente en riego por goteo en el nivel de 1 mM de nitrato (2.25 mg·g⁻¹) con respecto a 0.3 mM y es interesante observar que en riego por gravedad la concentración de este aminoácido disminuyó al aumentar el nivel de fertilización. Para los aminoácidos isoleucina y valina se encontró que su acumulación fue en mayor medida en 3 mM en riego por gravedad (0.52 y 0.04 mg·g⁻¹, respectivamente), en contraste con riego por goteo donde la máxima concentración fue en 9 mM de nitrato (0.44 y 0.55 mg·g⁻¹, respectivamente).

En la Tabla 18 se muestran los resultados del análisis de los aminoácidos no esenciales identificados. Los resultados obtenidos en la primer fecha analizada para glu/gln, indicaron que en el nivel de fertilización de 3 mM en riego por goteo se obtuvo una concentración significativamente más alta que en 0.3 y 20 mM; mientras que en el segundo pico de producción para ambos sistemas de riego se acumuló significativamente en 9 mM respecto a 0 mM.

Tabla 18. Contenido de aminoácidos no esenciales (mg g^{-1} peso seco) identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego: goteo y gravedad. Valores promedio de tres repeticiones.

| mM N | Fecha de cosecha | | | |
|------|------------------------|----------|--------------|-----------|
| | 28 Noviembre 2003 | | 5 Marzo 2004 | |
| | GLUTAMATO / GLUTAMINA | | | |
| | Gravedad | Goteo | Gravedad | Goteo |
| 0 | 0.86 bc ^Z | 1.05 abc | 1.58 c | 1.52 c |
| 0.3 | 0.99 bc | 0.57 c | 1.80 bc | 2.60 bc |
| 1 | 0.73 bc | 1.14 abc | 1.70 bc | 2.30 bc |
| 3 | 1.20 abc | 1.70 a | 3.01 bc | 3.04 bc |
| 9 | 1.05 abc | 1.35 ab | 5.56 a | 3.40 b |
| 20 | 1.25 ab | 0.58 c | 2.44 bc | 1.74 bc |
| | ASPARTATO / ASPARAGINA | | | |
| 0 | 0.45 b | 1.08 ab | 2.66 a | 0.24 g |
| 0.3 | 0.68 ab | 0.30 b | 0.30 fg | 0.85 defg |
| 1 | 1.61 a | 0.20 b | 0.48 efg | 1.22 bcde |
| 3 | 0.54 ab | 1.13 ab | 1.91 ab | 1.08 cdef |
| 9 | 0.48 b | 1.22 ab | 1.76 bc | 1.33 bcd |
| 20 | 1.63 a | 0.86 ab | 0.43 efg | 1.40 bcd |
| | GLICINA | | | |
| 0 | 0.19 de | 0.02 e | 0.12 e | 0.13 e |
| 0.3 | 0.36 bc | 0.30 c | 0.07 e | 0.13 e |
| 1 | 0.03 e | 0.33 c | 0.36 cd | 0.13 e |
| 3 | 0.06 de | 0.23 cd | 0.34 cd | 0.43 bc |
| 9 | 0.66 a | 0.04 de | 0.71 a | 0.29 d |
| 20 | 0.53 ab | 0.27 c | 0.16 e | 0.53 b |
| | SERINA | | | |
| 0 | 0.01 d | 0.03 d | 0.39 a | 0.22 abc |
| 0.3 | 0.22 c | 0.04 d | 0.10 c | 0.13 c |
| 1 | 0.38 b | 0.31 bc | 0.06 c | 0.35 ab |
| 3 | 0.29 bc | 0.33 bc | 0.03 c | 0.18 bc |
| 9 | 0.63 a | 0.07 d | 0.21 abc | 0.16 bc |
| 20 | 0.25 bc | 0.03 d | 0.36 ab | 0.17 bc |
| | TIROSINA | | | |
| 0 | 0.40 cd | 0.07 d | 1.35 a | 0.13 d |
| 0.3 | 1.06 a | 0.50 cd | 0.29 cd | 0.42 cd |
| 1 | 0.95 ab | 1.05 a | 0.47 cd | 0.26 d |
| 3 | 0.83 bc | 0.52 bc | 0.81 bc | 0.55 cd |
| 9 | 0.43 cd | 1.10 a | 0.48 cd | 0.53 cd |
| 20 | 0.58 bc | 0.47 cd | 1.27 ab | 0.48 cd |

^Z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada aminoácido y fecha.

Con lo que respecta al contenido de asp/asn, el fruto de fresa cosechado en la fecha del 28 de Noviembre en riego por gravedad presentó un contenido significativamente mayor en el nivel de 1 y 20 mM con respecto a los niveles 0 y 9 mM de N; para riego por goteo, no se detectaron diferencias significativas en el contenido de asp/asn, solo se detectó una tendencia a incrementarse la concentración en los niveles medios de fertilización (3 y 9 mM). Es de notar que en el fruto colectado en la fecha del 5 de Marzo por el sistema de riego por gravedad se obtuvo el máximo contenido de asp/asn en las plantas no fertilizadas que fue significativamente mayor al encontrado en los niveles altos de fertilización (9 y 20 mM), mientras que en riego por goteo se observó la mínima concentración a dosis de 0 mM siendo significativamente diferente al del resto de los niveles de fertilización aplicados, hasta alcanzar el máximo en 20 mM.

De manera general en la primer fecha la concentración de los aminoácidos glicina y serina tendió a incrementarse significativamente en el nivel de 9 mM en riego por gravedad mientras que en goteo fue en 0.3 y 3 mM, respectivamente; para la segunda fecha de cosecha se observó que la glicina se acumuló en los niveles de 9 y 20 mM a comparación de la serina que su mayor concentración fue en 0 y 1 mM, en riego por gravedad y goteo respectivamente. Para tirosina, se observó que tanto el 28 de Noviembre como para el 5 de Marzo en riego por gravedad se acumuló significativamente en las dosis bajas de N evaluadas (0.3 y 0 mM, respectivamente); mientras que para riego por goteo se acumuló en los niveles medios (9 y 3 mM, respectivamente), sin ser significativo en el caso de goteo en la segunda fecha evaluada. Se tiene establecido que los aminoácidos glicina y serina son precursores de compuestos como los fosfolípidos, purinas y además son fuentes principales de carbón en todos los órganos de la

planta (Morot-Gaudry *et al.*, 2001), así que por su carácter dinámico e interconvertible, el análisis de su cuantificación no siguió un patrón definido.

7.2.3 Ácidos orgánicos

Al igual que los azúcares, los ácidos orgánicos son importantes en el sabor de la fresa. El análisis de estos compuestos en los frutos analizados indicó la presencia de ácido ascórbico y ácido cítrico. Cordenunsi y col. (2002) mencionaron que el ácido cítrico contribuye con un 92% a la acidez de la fresa, por lo que es considerado un importante índice de calidad. Otro ácido orgánico importante para establecer la calidad en la fresa es el ácido ascórbico, también conocido como vitamina C, que es uno de los más importantes antioxidantes en plantas, animales y humanos (Pérez *et al.*, 1997).

En la Tabla 19, se muestra el contenido de los ácidos ascórbico y cítrico en el fruto cosechado en ambas fechas de muestreo. Como se puede observar, el contenido del ácido ascórbico fue el doble y en algunos casos superior al contenido del ácido cítrico.

Tabla 19. Contenido de ácidos orgánicos ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego: goteo y gravedad. Valores promedio de tres repeticiones.

| mM N | Fecha de cosecha | | | |
|------------------------|-----------------------|-----------|--------------|-----------|
| | 28 Noviembre 2003 | | 5 Marzo 2004 | |
| | Gravedad | Goteo | Gravedad | Goteo |
| ÁCIDO ASCÓRBICO | | | | |
| 0 | 13.83 ab ^Z | 25.47 a | 23.43 ab | 20.13 abc |
| 0.3 | 18.30 ab | 14.92 ab | 14.97 abc | 20.41 abc |
| 1 | 17.86 ab | 18.09 ab | 25.16 a | 14.40 bc |
| 3 | 20.33 ab | 12.524 b | 19.33 abc | 17.14 abc |
| 9 | 9.05 b | 18.76 ab | 11.02 c | 17.66 abc |
| 20 | 14.55 ab | 18.12 ab | 10.97 c | 15.35 abc |
| ÁCIDO CÍTRICO | | | | |
| 0 | 6.88 abcd | 8.00 ab | 3.78 e | 5.22 de |
| 0.3 | 7.59 abc | 8.75 a | 7.62 cd | 14.50 a |
| 1 | 4.85 bcd | 4.39 cd | 5.33 de | 12.73 ab |
| 3 | 7.29 abc | 4.56 bcd | 5.52 de | 6.75 de |
| 9 | 3.47 d | 5.48 abcd | 6.47 de | 9.95 bc |
| 20 | 3.63 d | 4.36 cd | 11.68 ab | 6.61 de |

^Z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada ácido orgánico y fecha.

En los frutos cosechados el 28 de Noviembre, el ácido ascórbico presentó la tendencia a incrementarse en el nivel 3 mM de N en el sistema de riego por gravedad pero para riego por goteo fue en el nivel de 0 mM; en el caso del ácido cítrico se observó que la concentración del ácido cítrico se incrementó en 0.3 mM de nitrato tanto para gravedad como para riego por goteo.

En la segunda fecha de muestreo se observó una diferencia significativa en el contenido de ácido ascórbico en la dosis de 1 mM de N con respecto a la de 9 y 20 mM cuando se aplicó un sistema de riego por gravedad aunque para goteo presentó la concentración máxima en 0.3 mM sin ser significativa, con lo que respecta al ácido cítrico se

observó un aumento significativo de concentración a dosis de 20 mM para riego por gravedad y en 0.3 mM en riego por goteo.

De manera general la concentración del ácido ascórbico tendió disminuir al aumentar el nivel de fertilización nítrica, lo que ya había sido reportado anteriormente por Hynes y Goh (1987) y esto puede explicarse debido a que el ácido ascórbico es una γ -lactona que puede ser sintetizado a partir de glucosa y galactosa, por lo que su contenido está en función de la concentración de estos azúcares en el fruto, los cuales tendieron a disminuir al incrementar la dosis de N aplicada.

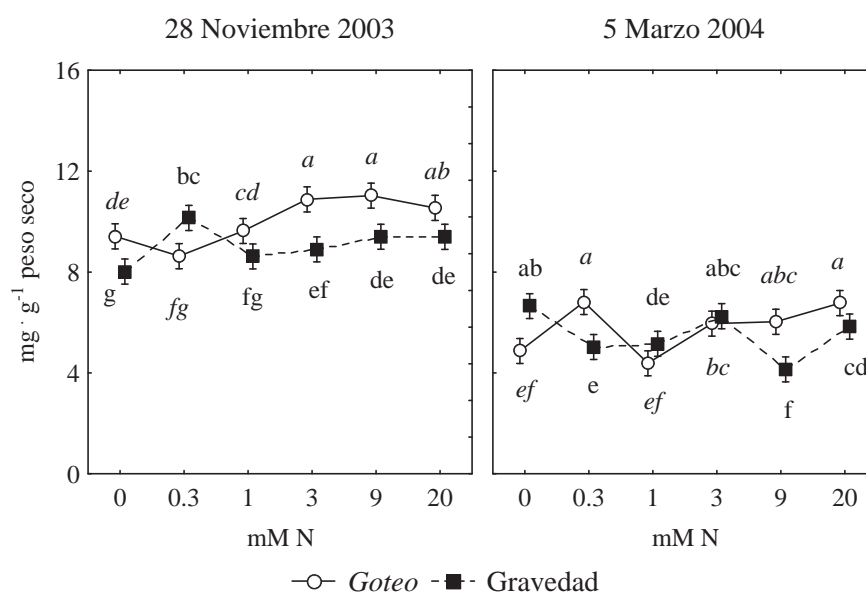
7.2.4 Ácidos grasos

El análisis de ácidos grasos del fruto cosechado en campo indicó la presencia de los ácidos palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3), siendo el más abundante el C18:2 en todos los tratamientos nitrogenados.

En la Figura 19, se observa que hubo una mayor acumulación de los ácidos grasos libres totales en los frutos cosechados durante el 28 de Noviembre que en los del 5 de Marzo, esto podría deberse a que durante el primer ciclo de producción de la planta es joven y requiere de gran inversión de compuestos como los lípidos para la biosíntesis de componentes de membranas celulares para que pueda desarrollarse (Macías-Rodríguez, 2002). En esta misma fecha se apreció que la concentración de ácidos grasos en riego por goteo tendió a aumentar significativamente a partir del nivel 3 mM respecto a 0, 0.3 y 1 mM a diferencia del sistema de riego por gravedad que disminuyó significativamente a partir de 1 mM respecto a 0.3 mM, éste último resultado puede sugerir que en sistema de riego por goteo el desarrollo de la planta pudo verse mermado al disminuir el contenido de ácidos grasos libres al aumentar la

dosis de N aplicada. Para la segunda fecha de cosecha analizada se observó una mayor influencia del nivel de fertilización ya que el comportamiento de la acumulación de ácidos grasos parece ser aleatorio.

Figura 18. Contenido de ácidos grasos libres totales en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego: goteo y gravedad.



Cada punto representa la media de tres repeticiones \pm desviación estándar. El análisis estadístico se realizó de manera independiente por fecha, puntos con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$.

Como se puede observar en la Tabla 20, los ácidos grasos insaturados fueron más abundantes que los saturados, esto puede deberse a que como participan en la biosíntesis de compuestos volátiles, la planta acumule mayormente a éstos en el fruto. Además se observó que en el sistema de riego por goteo el comportamiento en la concentración tanto de ácidos grasos insaturados como saturados fue similar ya que en el 28 de Noviembre aumentó paulatinamente conforme aumentó la dosis de N aplicada hasta su máximo en 9 mM para ambos ácidos y en la segunda fecha analizada fue en 0.3 mM aún cuando los ácidos

insaturados tuvieron un segundo pico máximo en 20 mM. En el caso del sistema de riego por gravedad no se observó esta tendencia pues los valores de acumulación son aleatorios; estos resultados sugieren que el sistema de riego por goteo influencia la acumulación de estos compuestos haciéndolos constantes y predecibles, mientras que el sistema de riego por gravedad provoca desajustes metabólicos importantes de tal manera que hace que la acumulación de metabolitos sea inconsistente.

Tabla 20. Contenido de ácidos grasos insaturados y saturados ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego: goteo y gravedad. Valores promedio de tres repeticiones.

| mM N | Fecha de cosecha | | | |
|------|---------------------------|----------|--------------|---------|
| | 28 Noviembre 2003 | | 5 Marzo 2004 | |
| | ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS | | | |
| | Gravedad | Goteo | Gravedad | Goteo |
| 0 | 5.65 f ^z | 6.93 b | 5.03 a | 3.79 de |
| 0.3 | 6.78 bc | 5.70 f | 3.66 e | 5.04 a |
| 1 | 5.87 ef | 6.61 bc | 4.02 cde | 3.02 f |
| 3 | 5.91 def | 7.58 a | 4.68 ab | 4.41 bc |
| 9 | 6.31 cde | 7.65 a | 2.99 f | 4.43 bc |
| 20 | 6.45 bcd | 7.50 a | 4.31 bcd | 5.27 a |
| | ÁCIDOS GRASOS SATURADOS | | | |
| 0 | 2.37 f | 2.49 ef | 1.62 ab | 1.08 d |
| 0.3 | 3.37 a | 2.93 cd | 1.37 bc | 1.77 a |
| 1 | 2.75 de | 3.02 bcd | 1.13 cd | 1.36 bc |
| 3 | 3.00 cd | 3.30 ab | 1.57 ab | 1.55 ab |
| 9 | 3.09 abc | 3.38 a | 1.15 cd | 1.60 ab |
| 20 | 2.95 cd | 3.04 bcd | 1.53 ab | 1.50 ab |

^z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada ácido graso y fecha.

El análisis individual de los ácidos grasos saturados identificados mostró que para C16:0 las mayores acumulaciones en la primer fecha evaluada fue en 0.3 y 9 mM en riego por gravedad y goteo, respectivamente; mientras que para el 5 de Marzo la acumulación se da en los niveles de N más bajos evaluados, es decir, en 0 y 0.3 mM, respectivamente (Tabla 21).

Tabla 21. Contenido de ácidos grasos ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego: goteo y gravedad. Valores promedio de tres repeticiones.

| mM N | Fecha de cosecha | | | |
|------|---------------------|----------|--------------|----------|
| | 28 Noviembre 2003 | | 5 Marzo 2004 | |
| | Gravedad | Goteo | Gravedad | Goteo |
| | C16:0 | | | |
| 0 | 2.01 f ^z | 2.10 ef | 1.46 ab | 0.82 d |
| 0.3 | 2.77 a | 2.45 bcd | 1.20 bc | 1.62 a |
| 1 | 2.20 def | 2.58 abc | 0.99 cd | 1.21 bc |
| 3 | 2.37 cde | 2.72 ab | 1.40 ab | 1.38 ab |
| 9 | 2.56 abc | 2.83 a | 1.01 cd | 1.42 ab |
| 20 | 2.45 bcd | 2.59 abc | 1.37 ab | 1.28 b |
| | C18:0 | | | |
| 0 | 0.36 g | 0.39 fg | 0.17 bc | 0.26 a |
| 0.3 | 0.60 ab | 0.48 de | 0.17 bc | 0.15 c |
| 1 | 0.55 abcd | 0.44 efg | 0.14 c | 0.16 c |
| 3 | 0.63 a | 0.57 abc | 0.17 bc | 0.17 bc |
| 9 | 0.53 bcde | 0.54 bcd | 0.14 c | 0.18 bc |
| 20 | 0.49 cde | 0.45 ef | 0.16 c | 0.22 ab |
| | C18:1 | | | |
| 0 | 0.68 fg | 1.42 ab | 1.00 abc | 1.15 a |
| 0.3 | 1.20 cd | 0.52 g | 0.76 de | 1.07 ab |
| 1 | 1.02 de | 0.85 ef | 1.11 a | 0.75 de |
| 3 | 1.07 d | 1.27 bc | 1.06 ab | 0.85 cde |
| 9 | 1.17 cd | 1.58 a | 0.45 f | 0.91 bcd |
| 20 | 1.19 cd | 1.45 ab | 0.72 e | 1.11 a |
| | C18:2 | | | |
| 0 | 3.30 c | 3.57 bc | 2.38 ab | 1.22 d |
| 0.3 | 3.49 bc | 3.52 bc | 1.79 c | 2.54 a |
| 1 | 3.45 c | 3.84 ab | 1.49 cd | 1.57 c |
| 3 | 3.31 c | 4.11 a | 2.17 b | 2.23 ab |
| 9 | 3.60 bc | 4.16 a | 1.61 c | 2.35 ab |
| 20 | 3.44 c | 4.11 a | 2.19 b | 2.46 ab |
| | C18:3 | | | |
| 0 | 1.68 cde | 1.94 abc | 1.64 ab | 1.42 abc |
| 0.3 | 2.09 ab | 1.66 cde | 1.11 cd | 1.43 abc |
| 1 | 1.41 e | 1.92 abc | 1.42 abc | 0.70 e |
| 3 | 1.52 de | 2.20 a | 1.45 abc | 1.33 bc |
| 9 | 1.54 de | 1.91 abc | 0.93 de | 1.17 cd |
| 20 | 1.82 bcd | 1.95 abc | 1.40 abc | 1.70 a |

^z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada ácido graso y fecha.

El ácido graso insaturado más abundante en todos los tratamientos evaluados fue el C18:2, es de notar que en riego por goteo la concentración de este ácido graso comienza a aumentar significativamente a partir de 3 mM hasta alcanzar su mayor acumulación en el nivel de 9 mM y permanece constante, mientras que para gravedad la mayor acumulación fue en 0.3 mM y disminuye drásticamente a dosis mayores de N; para la segunda fecha evaluada de nuevo la mayor acumulación se logró en riego por goteo en 0.3 mM y disminuye significativamente en 1 mM pero vuelve a incrementarse la concentración en los niveles de N siguientes donde permanece constante; en riego por gravedad la mayor concentración fue en 0 mM y el comportamiento en los demás niveles fue inconsistente (Tabla 21).

El análisis del resto de los ácidos grasos insaturados identificados mostró que en gravedad para el 28 de Noviembre, tanto C18:1 como C18:3 se acumularon significativamente en 0.3 mM pero en riego por goteo la acumulación del C18:1 fue en 9 mM y para C18:3 fue en 3 mM. No se observó lo mismo para el 5 de Marzo ya que en gravedad el C18:1 se acumuló en 1 mM y el C18:3 en 0 mM pero para riego por goteo ambos ácidos grasos tendieron a acumularse en la primer fecha evaluada en los niveles mínimos de fertilización nitrogenada (0 y 0.3 mM) y el máximo nivel evaluado (20 mM).

7.2.5 Compuestos volátiles

El sabor y aroma de la fresa está determinando por más de 300 compuestos (Zabetakis y Holden, 1997), la mayoría de ellos generados durante la fase de maduración, que pueden ser agrupados en diferentes familias químicas incluyendo ácidos orgánicos, aldehídos, cetonas, alcoholes, ésteres, lactonas, compuestos sulfurados, acetales, furanos, fenoles, terpenos y

epóxidos. Aunque algunos miembros de estos grupos estén en pequeñas cantidades pueden tener un impacto significativo en el aroma global de la fresa.

El análisis de compuestos volátiles identificados por SPME/CG-EM en fruto cosechado en campo mostró la presencia de diez ácidos orgánicos, tres aldehídos, cinco alcoholes, siete ésteres, cinco lactonas y trece compuestos volátiles catalogados en otras familias químicas, como las de los compuestos sulfurados y terpenos. En los materiales analizados se identificó un mayor número de ácidos orgánicos lo que hace pensar que esta variedad se caracteriza por un sabor ácido.

En la Tabla 22 se muestra que en los frutos cosechados el 28 de noviembre fueron los más ácidos y se observó una tendencia a incrementarse la concentración de ácidos totales en 9 y 3 mM de nitrato para los sistemas de riego por gravedad y goteo respectivamente. Por otra parte, la concentración en los frutos cosechados para el 5 de marzo disminuyó con respecto a la primer fecha analizada y la tendencia a alcanzar la máxima acumulación se presentó en las dosis de 3 y 0 mM.

Tabla 22. Contenido (%) de las principales familias de compuestos volátiles identificadas en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego: goteo y gravedad. Valores promedio de tres repeticiones.

| | Nivel de fertilización (mM) | | | | | | | |
|-------------------|-----------------------------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|
| | Gravedad | | | | Goteo | | | |
| | 0 | 3 | 9 | 20 | 0 | 3 | 9 | 20 |
| 28 Noviembre 2003 | | | | | | | | |
| Ácidos | 52.30a | 53.12a | 58.23a | 56.40a | 57.33a | 60.49a | 57.71a | 59.48a |
| Aldehídos | 15.80a | 1.30b | 0.72b | 3.39b | 1.59b | 1.49b | 0.73b | 1.33b |
| Cetonas | 0.00b | 8.53ab | 9.75ab | 0.84ab | 10.22ab | 10.92ab | 13.76a | 9.70ab |
| Alcoholes | 14.39ab | 17.58a | 15.38ab | 18.06a | 10.22b | 14.24ab | 11.54ab | 12.32ab |
| Ésteres | 4.17a | 7.63a | 7.14a | 6.73a | 4.51a | 7.55a | 7.57a | 7.60a |
| Lactonas | 5.66ab | 4.52abcd | 3.33bcd | 5.07abc | 6.48a | 2.25d | 2.69cd | 4.18abcd |
| Otros | 4.38a | 3.19ab | 3.09ab | 3.93ab | 1.90b | 2.41ab | 2.50ab | 2.19ab |
| 5 Marzo 2004 | | | | | | | | |
| Ácidos | 39.76a | 42.53a | 42.40a | 35.02a | 44.39a | 41.32a | 38.60a | 41.02a |
| Aldehídos | 7.00b | 16.76a | 7.24b | 5.84b | 2.63b | 9.97ab | 6.38b | 8.65ab |
| Cetonas | 7.11b | 3.61b | 8.27ab | 20.01a | 6.95b | 3.62b | 3.61b | 6.49b |
| Alcoholes | 31.31a | 22.30a | 22.52a | 24.84a | 29.46a | 23.24a | 37.08a | 26.74a |
| Ésteres | 7.73a | 6.33a | 10.48a | 4.75a | 6.08a | 10.03a | 6.08a | 8.23a |
| Lactonas | 3.31a | 2.90a | 2.94a | 1.88a | 31.31a | 22.30a | 22.52a | 24.84a |
| Otros | 2.24a | 2.93a | 4.54a | 3.85a | 4.72a | 6.52a | 5.02 a | 3.81a |

^z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada familia química y fecha.

Otra de las familias más abundantes en el material analizado fueron los aldehídos cuya concentración total máxima encontrada el 28 de noviembre fue en los frutos cosechados de plantas no fertilizadas (15.80 y 1.59% para gravedad y goteo respectivamente), no así para el 5 de marzo donde el máximo fue en 3 mM (16.76 y 9.97% para gravedad y goteo respectivamente).

Los compuestos pertenecientes a la familia de los alcoholes normalmente contribuyen poco en el aroma característico de la fresa pero se ha encontrado que en cierta medida influyen en la formación de ésteres, pero también pueden dar lugar a aroma y sabor desagradable; en el material analizado cultivado en riego por gravedad se observó que la concentración de estos

compuestos tiende a incrementarse en 20 mM, en la primer fecha y en 0 mM en la fecha del 5 de Marzo, mientras que en riego por goteo tienden a acumularse en los niveles medios de fertilización evaluados (3 y 9 mM N para la primer y segunda fecha, respectivamente).

De los ésteres se observó que su concentración total varió dependiendo del nivel de fertilización y sistema de riego aplicado, esto se mostró claramente en los frutos cosechados el 5 de Marzo donde la mayor acumulación de estos compuestos fue en 9 mM para riego por gravedad (10.48%) y en 3 mM para riego por goteo (10.03%).

Se identificaron y cuantificaron otros compuestos como las cetonas que se vieron afectadas en gran medida por el nivel de fertilización aplicado puesto que en frutos cosechados el 28 de noviembre se observó una tendencia a aumentar su concentración hasta lograr un máximo en 9 mM para disminuir posteriormente a dosis de 20 mM de nitrato para ambos sistemas de riego y para el 5 de marzo no hubo una tendencia clara ya que en riego por gravedad la mayor acumulación fue en 20 mM pero no así en riego por goteo que fue en 0 mM.

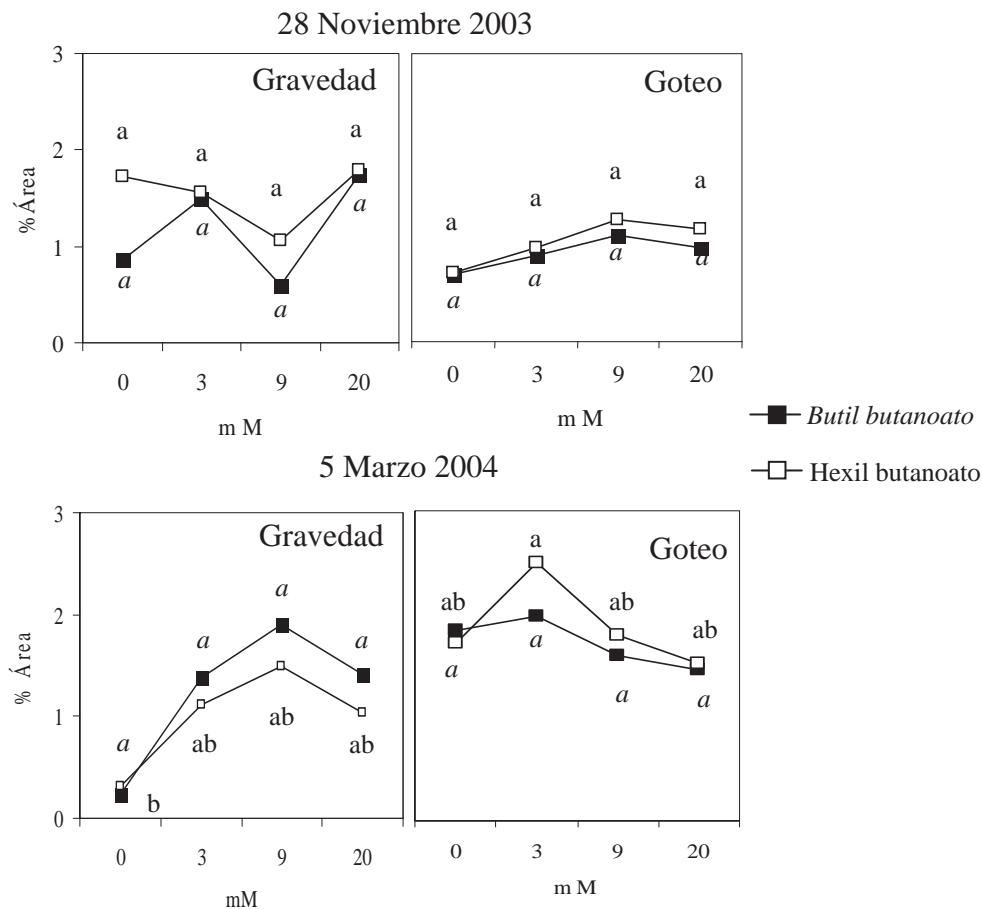
También se identificaron compuestos pertenecientes a la familia de las lactonas, que aún cuando son de los menos abundantes influyen en gran medida en el aroma global de la fresa y el análisis de su cuantificación mostró que en general la concentración de estos compuestos fue mayor en los niveles de fertilización de 0 mM de nitrato independientemente de la fecha analizada y el tipo de riego aplicado.

El análisis de los biomarcadores de calidad aromática se muestra en la Figura 20, donde se observó que el 28 de Noviembre en riego por gravedad no hubo un patrón que definiera la acumulación de los ésteres evaluados en relación al nivel de N aplicado y sólo se detectó que tendieron a acumularse en 20 mM (1.75 y 1.79% para butil y hexil butanoato,

respectivamente), para el caso de riego por goteo se observó una clara tendencia, que aunque no fue significativa se incrementó la concentración de ambos butanoatos hasta un máximo en 9 mM (1.11 y 1.27% para butil y hexil butanoato, respectivamente). Para la fecha del 5 de Marzo en riego por gravedad la mayor acumulación tanto del butil butanoato como el hexil butanoato fue en 9 mM (2.43 y 1.90%, respectivamente) y es de notar que para el riego por goteo existió la mayor acumulación de estos biomarcadores en el nivel de 3mM de nitrato (1.98 y 2.50% para butil y hexil butanoato, respectivamente).

Estos resultados dejan ver que es en el segundo pico de producción de la planta donde se obtienen frutos con un mayor contenido de ésteres que se relacionan con la calidad aromática, este comportamiento puede ser debido a que para esta temporada la planta además de que ya ha terminado su desarrollo vegetativo también las temperaturas calidas (promedio de 25°C) favorecieron el metabolismo en general promoviendo su acumulación; también es de notar que los sistemas de riego afectaron estos procesos, siendo el riego por goteo donde se observó una mayor consistencia en la respuesta acumulativa de los biomarcadores del aroma respecto a los niveles nítricos evaluados.

Figura 19. Contenido de Butil hexanoato y Hexil hexanoato como biomarcadores de calidad aromática, identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego: goteo y gravedad.



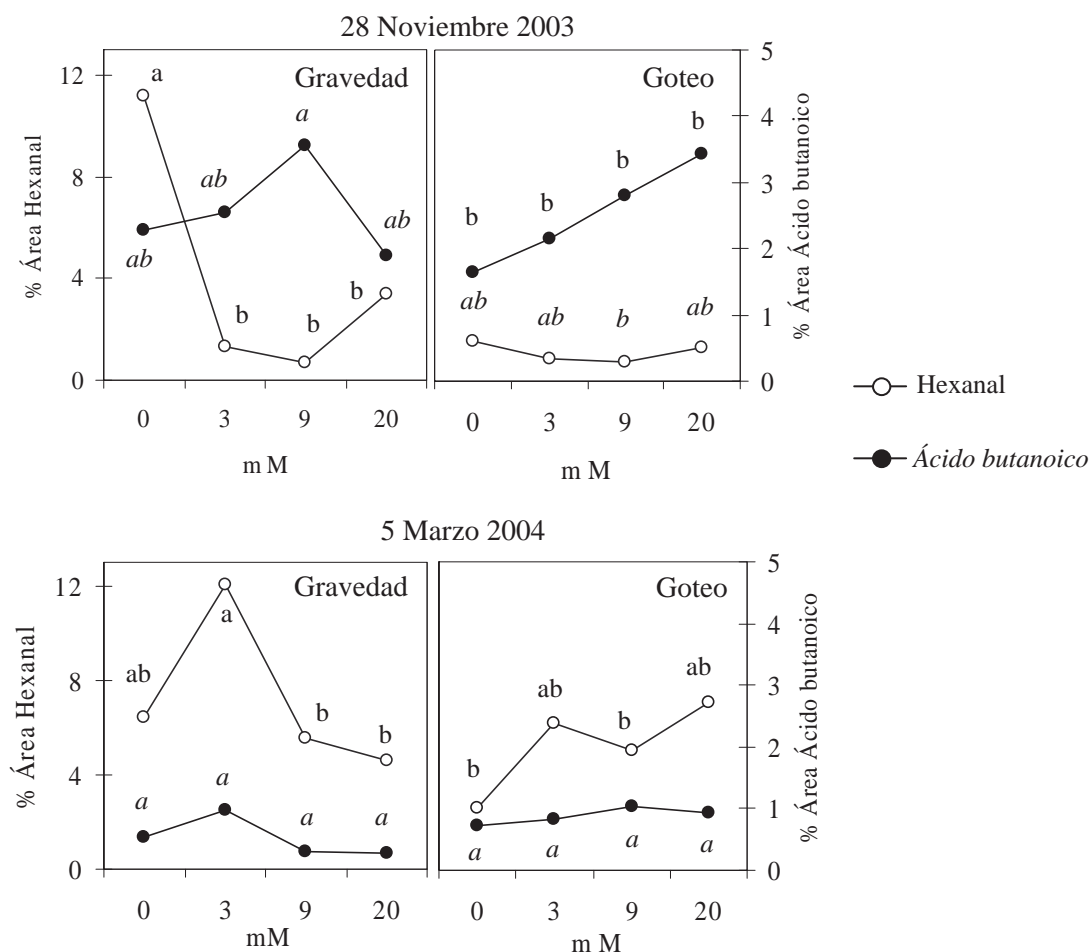
Cada punto representa la media de tres repeticiones \pm desviación estándar. El análisis estadístico se realizó de manera independiente por fecha, puntos con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$.

En la Figura 21, se muestran los resultados obtenidos del análisis de los biomarcadores de madurez de fruto, donde se observó que el 28 de Noviembre en riego por gravedad el hexanal se acumuló significativamente en el nivel de N de 0 mM (11.17%) y aunque no fue significativo también en la dosis de 20 mM (3.39%); esta misma tendencia se observó para

riego por goteo que aunque no fue significativa se acumuló en 0 mM y 20 mM (1.59 % y 1.33%, respectivamente). Para la segunda fecha evaluada se observó que sigue siendo en gravedad donde se acumuló el hexanal en el nivel de 3 mM (12.1 %) en comparación de riego por goteo donde se acumuló principalmente en el nivel de 20 mM (7.1%).

En el caso del ácido butanoico, se observó que fue en el 28 de Noviembre tendió a acumularse este compuesto; esto puede deberse a que bajo las condiciones ambientales predominantes durante el primer pico de producción (con temperaturas promedio de 22°C) no favorecieron la síntesis de butanoatos a partir del ácido butanoico. De forma general se observó que la concentración de este ácido tendió a disminuir en los niveles donde se incrementó la acumulación de los butanoatos, esto puede verse en el sistema de riego por gravedad del 5 de Marzo donde la máxima acumulación de ácido butanoico fue en 0.3 mM que posteriormente disminuye a dosis de N mayores contrastando con lo observado para los butanoatos donde la mayor acumulación fue precisamente donde el ácido butanoico alcanzó sus concentraciones menores.

Figura 20. Contenido de Ácido butanoico y hexanal como biomarcadores de madurez identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nítrica y dos sistemas de riego: goteo y gravedad.



Cada punto representa la media de tres repeticiones \pm desviación estándar. El análisis estadístico se realizó de manera independiente por fecha, puntos con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$.

Los resultados obtenidos de los biomarcadores de madurez mostraron que el sistema de riego por gravedad, a comparación con riego por goteo, acentúa el efecto que tiene el N sobre el proceso de maduración ya que provocó el aumento de hexanal, principalmente en los

niveles de 0 y 20 mM de nitrato, que es un compuesto que caracteriza el perfil aromático de los frutos inmaduros.

En la Tabla 23 se muestran el resto de los compuestos volátiles identificados donde se observó que de los ácidos más abundantes fueron el ácido acético, propanoico y hexanoico, tal como se ha reportado en la literatura. En los frutos cosechados en la primer fecha analizada en riego por gravedad se observó que el ácido acético alcanzó su máximas concentración en 9 mM (47.98%) mientras que el ácido propanoico y hexanoico lo hicieron en 0 mM (1.00 y 4.77% respectivamente); para los frutos cosechados en goteo la mayor acumulación de los mismos ácidos fue en 20 mM a excepción del ácido acético que se localizó en 3 mM. Para los frutos cosechados el 5 de Marzo en riego por gravedad se observó que para los ácidos propanoico y hexanoico la mayor concentración fue en los frutos obtenidos de plantas cultivadas con el nivel de 3 mM (0.41 y 2.82% respectivamente) mientras que el ácido acético fue en plantas no fertilizadas (34.36%). Para los frutos cosechados en riego por goteo las mayores concentraciones de éstos fueron en 3 mM (36.32, 0.97 y 3.01% para los ácidos acético, propanoico y hexanoico, respectivamente).

Los compuestos volátiles de carácter ácido son importantes para el sabor ya que juegan un papel importante en la formación de ésteres pero además son los responsables de la formación de olores desagradables durante el procesamiento industrial de las fresas, así que la acumulación de estos compuestos a consecuencia de la variables analizadas pueden favorecer o afectar la calidad organoléptica del alimento dependiendo del manejo del fruto.

Tabla 23. Contenido (%) de otros compuestos volátiles identificados en fruto de fresa var. Aromas en dos fechas de cosecha, cultivada en campo a diferentes niveles de fertilización nitróica y dos sistemas de riego: goteo y gravedad. Valores promedio de tres repeticiones

| | Nivel de fertilización (mM) | | | | | | | | | |
|--------------------|-----------------------------|--------|---------|---------|--------|--------|---------|---------|--|--|
| | Gravedad | | | | | Goteo | | | | |
| | 0 | 3 | 9 | 20 | 0 | 3 | 9 | 20 | | |
| ÁCIDOS | | | | | | | | | | |
| | 28 Noviembre 2003 | | | | | | | | | |
| Acético | 41.19a | 43.98a | 47.98a | 46.85a | 47.44a | 49.82a | 46.18a | 47.33a | | |
| Propanoico | 1.00a | 0.20b | 0.34b | 0.50b | 0.34b | 0.28b | 0.37b | 0.40b | | |
| 2-Metil propanoico | 0.49a | 0.06c | 0.20bc | 0.22bc | 0.00c | 0.16bc | 0.34ab | 0.31ab | | |
| 2-Metil butanoico | 0.00c | 0.00c | 2.14a | 1.75ab | 0.00c | 0.44bc | 0.81abc | 0.91abc | | |
| 2-Metil hexanoico | 1.94a | 1.34ab | 0.00c | 0.00c | 1.34ab | 0.78bc | 0.98b | 0.94bc | | |
| Hexanoico | 4.77a | 3.46ab | 3.19abc | 3.09abc | 1.56bc | 1.32a | 2.64abc | 2.83abc | | |
| 2-Etil hexanoico | 0.46b | 1.28ab | 0.37b | 2.03ab | 3.00ab | 4.90a | 2.83ab | 2.91ab | | |
| Octanoico | 0.18ab | 0.20a | 0.05bc | 0.07abc | 0.00c | 0.00c | 0.00c | 0.13abc | | |
| Hexadecanoico | 0.00a | 0.06a | 0.41a | 0.00a | 1.99a | 0.65a | 0.76a | 0.31a | | |
| | 5 Marzo 2004 | | | | | | | | | |
| Acético | 34.36a | 32.84a | 33.44a | 30.64a | 36.00a | 36.32a | 36.20a | 35.13a | | |
| Propanoico | 0.34bcd | 0.41ab | 0.40bcd | 0.00d | 0.53bc | 0.97a | 0.29cd | 0.27cd | | |
| 2-Metil propanoico | 0.68ab | 0.63ab | 0.39b | 0.38b | 1.50a | 0.82ab | 0.16b | 0.33b | | |
| 2-Metil butanoico | 0.50a | 0.00a | 0.00a | 0.35a | 0.64a | 1.09a | 0.60a | 1.14a | | |
| 2-Metil hexanoico | 0.50a | 1.04a | 1.54a | 0.37a | 1.70a | 1.20a | 0.63a | 0.00a | | |
| Hexanoico | 2.36a | 2.82ab | 2.72a | 2.28a | 2.40a | 3.10a | 2.53a | 1.41a | | |
| 2-Etil hexanoico | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 0.10a | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 0.00a | | |
| Octanoico | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 0.09a | 0.00a | 0.08a | 0.10a | | |
| Hexadecanoico | 0.30ab | 0.16ab | 0.13b | 0.00b | 0.00b | 0.00b | 0.00b | 1.52a | | |
| Continuación... | Nivel de fertilización (mM) | | | | | | | | | |

| | Gravedad | | | | Goteo | | | |
|---------------------|----------|--------|---------|-------------------|--------|---------|--------|--------|
| | 0 | 3 | 9 | 20 | 0 | 3 | 9 | 20 |
| ALDEHÍDOS | | | | | | | | |
| Nonanal | 3.92a | 0.00b | 0.00b | 0.00b | 0.00b | 0.00b | 0.00b | 0.00b |
| Decanal | 0.71b | 0.00b | 0.00b | 0.00b | 0.64a | 0.00b | 0.00b | 0.00b |
| | | | | 28 Noviembre 2003 | | | | |
| Acetaldehído | 0.00a | 0.00a | 0.36a | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 0.21a |
| Propanal | 0.22b | 0.67a | 0.12b | 0.28b | 0.16b | 0.00b | 0.00b | 0.00b |
| Nonanal | 0.00b | 4.69b | 1.71ab | 1.25ab | 0.00b | 3.74ab | 1.30ab | 1.59ab |
| Decanal | 0.55a | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 0.00a |
| | | | | 5 Marzo 2004 | | | | |
| ALCOHOLES | | | | | | | | |
| Etanol | 11.78ab | 14.74a | 12.70ab | 14.37a | 7.81b | 12.92ab | 9.67ab | 9.29ab |
| Alcohol bencílico | 1.52ab | 1.48ab | 1.47ab | 2.07a | 1.30ab | 0.65b | 0.98ab | 1.66ab |
| Fenil etil alcohol | 0.61ab | 0.61ab | 0.57ab | 0.82a | 0.42ab | 0.23b | 0.45ab | 0.69a |
| 2-Fenoxi-etanol | 0.18a | 0.44a | 0.37a | 0.52a | 0.37a | 0.12a | 0.17a | 0.31a |
| p-Tert-butil-fenol | 0.30a | 0.32a | 0.27a | 0.28a | 0.33a | 0.33a | 0.27a | 0.38a |
| | | | | 28 Noviembre 2003 | | | | |
| Etanol | 28.63a | 19.40a | 19.44a | 23.12a | 25.89a | 15.27a | 33.67a | 23.83a |
| Alcohol bencílico | 1.97ab | 1.72b | 1.91ab | 1.12b | 2.00ab | 4.00a | 2.19ab | 1.72b |
| Fenil etil alcohol | 0.31b | 0.55b | 0.64b | 0.27b | 0.51b | 3.14a | 0.68ab | 0.36b |
| 2-Fenoxi-etanol | 0.13a | 0.33a | 0.34a | 0.17a | 0.46a | 0.44a | 0.30a | 0.37a |
| p-Tert-butil- fenol | 0.28ab | 0.26ab | 0.19b | 0.16b | 0.60a | 0.39ab | 0.26ab | 0.37ab |
| | | | | 5 Marzo 2004 | | | | |

| Continuación... | Gravedad | | | | Goteo | | | |
|-----------------------------|----------|---|---|----|-------|---|---|----|
| | 0 | 3 | 9 | 20 | 0 | 3 | 9 | 20 |
| Nivel de fertilización (mM) | | | | | | | | |

| | 28 Noviembre 2003 | | | | 5 Marzo 2004 | | | |
|--|-----------------------------|--------|--------|--------|--------------|--------|--------|--------|
| | 0.00b | 0.00b | 0.69ab | 0.00b | 0.00b | 0.69a | 0.00a | 0.53a |
| ÉSTERES | | | | | | | | |
| Etil acetato | 0.00b | 0.00b | 0.69ab | 0.00b | 0.69a | 0.00a | 0.53a | 2.59a |
| 3-Hidroxi-etil butanoato | 0.42b | 3.24a | 4.18a | 2.25ab | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 0.00a |
| 2,2,4-Trimetil-1,3-pentanediol diisobutirato | 0.85ab | 1.03a | 0.41b | 0.86ab | 0.41b | 0.42b | 0.49ab | 0.64ab |
| (E)-3-Fenil-etil 2-propenoato | 0.31a | 0.30a | 0.21ab | 0.09ab | 0.21ab | 0.15ab | 0.00b | 0.25a |
| Etil acetato | 4.47a | 1.08a | 3.06a | 0.69a | 3.06a | 0.00a | 0.53a | 2.59a |
| Etil butanoato | 0.00a | 0.00a | 0.23a | 0.00a | 0.23a | 0.00a | 0.00a | 0.00a |
| 3-Hidroxi-etil butanoato | 2.35b | 1.83bc | 2.43b | 0.62c | 2.43b | 2.35b | 4.01a | 1.84bc |
| 2,2,4-Trimetil-1,3-pentanediol diisobutirato | 0.19a | 0.44a | 0.59a | 0.45a | 0.59a | 0.54a | 0.67a | 0.56a |
| (E)-3-Fenil-etil 2-propenoato | 0.07a | 0.11a | 0.28a | 0.19a | 0.28a | 0.22a | 0.34a | 0.25a |
| LACTONAS | | | | | | | | |
| Butirolactona | 3.29ab | 1.28b | 1.52b | 3.17ab | 1.52b | 4.42a | 1.71b | 2.39ab |
| τ Caprolactona | 0.00a | 0.19a | 0.26a | 0.22a | 0.26a | 0.06a | 0.00a | 0.33a |
| Pantolactona | 0.49a | 0.43ab | 0.38ab | 0.12ab | 0.38ab | 0.23ab | 0.08b | 0.13ab |
| τ Decalactona | 1.48ab | 2.18a | 0.81b | 1.13ab | 0.81b | 1.50ab | 0.46b | 1.18ab |
| γ Caprolactona | 0.40a | 0.44a | 0.37ab | 0.44a | 0.37ab | 0.27ab | 0.00b | 0.15ab |
| Continuación... | Nivel de fertilización (mM) | | | | | | | |
| | 0 | 3 | 9 | 20 | 0 | 0 | 3 | 20 |
| | Gravedad | | | | Goteo | | | |
| Butirolactona | 2.16ab | 1.65ab | 1.47ab | 0.88b | 5 Marzo 2004 | 1.74ab | 2.51a | 1.50ab |

| | | | | | | | |
|-----------------------|--------|-------|--------|-------|-------|-------|--------|
| τ Caprolactona | 0.00a | 0.00a | 0.15a | 0.00a | 0.33a | 0.14a | 0.00a |
| Pantolactona | 0.47ab | 0.57a | 0.24ab | 0.53a | 0.00b | 0.48a | 0.16ab |
| τ Decalactona | 0.26a | 0.25a | 0.32a | 0.41a | 0.64a | 0.44a | 0.30a |
| γ Caprolactona | 0.42a | 0.43a | 0.29a | 0.56a | 0.54a | 0.41a | 0.40a |

OTROS COMPUESTOS

| | 28 Noviembre 2003 | | | | | | |
|-------------------------------|-------------------|--------|--------|--------|---------|--------|---------|
| | 0 | 3 | 9 | 20 | 0 | 3 | 9 |
| 2,3-Butanediona | 0.00c | 3.41a | 1.97ab | 0.84bc | 1.46abc | 2.59ab | 2.24ab |
| 3-Hidroxi-2-butanona | 0.00b | 5.12ab | 7.79ab | 0.00b | 0.00b | 0.00b | 3.60ab |
| 4-Hidroxi-4-metil-2-pentanona | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 8.75a | 8.33a | 3.86a |
| Etanetiol | 0.30ab | 0.27ab | 0.33ab | 0.32ab | 0.00b | 0.54a | 0.23ab |
| Sulfuro de dimetilo | 0.00b | 0.00b | 0.00b | 0.00b | 0.11ab | 0.00b | 0.00b |
| 2H-Piran-2,6(3H)-dione | 1.34a | 1.19ab | 0.65bc | 1.21ab | 0.83abc | 0.36c | 0.21c |
| Oxido de Linalol | 0.47a | 0.00a | 0.20a | 0.00a | 0.00a | 0.34a | 0.00a |
| β Linalol | 0.71a | 0.17b | 0.45ab | 0.57ab | 0.37ab | 0.37ab | 0.42ab |
| Mirtenol | 1.29a | 0.90a | 1.28a | 1.45a | 0.53a | 0.67a | 0.89a |
| Nerolidol | 0.00b | 0.37a | 0.00b | 0.00b | 0.00b | 0.00b | 0.08b |
| Mirtenal | 0.04ab | 0.00b | 0.07ab | 0.00b | 0.00b | 0.00b | 0.13a |
| (E)- Geranilacetona | 0.23abc | 0.30ab | 0.12bc | 0.38a | 0.06c | 0.12bc | 0.24abc |

Continuación... Nivel de fertilización (mM)

| | Gravedad | | | | Goteo | | | |
|-------------------------------|--------------|-------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|
| | 0 | 3 | 9 | 20 | 0 | 3 | 9 | 20 |
| | 5 Marzo 2004 | | | | | | | |
| 2,3-Butanediona | 4.97ab | 0.00b | 5.80ab | 12.93a | 2.90b | 3.62b | 3.61b | 0.00b |
| 3-Hidroxi-2-butanona | 2.15a | 3.60a | 2.47a | 7.08a | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 6.49a |
| 4-Hidroxi-4-metil-2-pentanona | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 4.06a | 0.00a | 0.00a | 0.00a |

| | | | | | | | | |
|------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Etanetiol | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 0.22a | 0.28a | 0.28a | 0.30a | 0.54a |
| Sulfuro de dimetilo | 0.00b | 0.59ab | 0.79a | 0.26ab | 0.24ab | 0.26ab | 0.34ab | 0.00b |
| 2H-Piran-2,6(3H)-dione | 1.22a | 0.48a | 0.45a | 0.90a | 0.96a | 1.44a | 1.72a | 0.43a |
| Oxido de Linalol | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 0.00a | 0.59a | 0.00a | 0.20a |
| β Linalol | 0.35a | 0.17a | 0.72a | 0.57a | 0.39a | 0.66a | 0.42a | 0.72a |
| Mirtenol | 0.34b | 1.41ab | 2.01ab | 1.29ab | 2.43a | 2.62a | 1.67ab | 1.71ab |
| Nerolidol | 0.09a | 0.00a | 0.15a | 0.33a | 0.17a | 0.23a | 0.19a | 0.00a |
| Mirtenal | 0.05ab | 0.04ab | 0.18a | 0.07ab | 0.00b | 0.03b | 0.08ab | 0.00b |
| (E)- Geranilacetona | 0.19a | 0.25a | 0.24a | 0.19a | 0.24a | 0.40a | 0.31a | 0.15a |

^Z valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba LSD a una $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada compuesto y fecha.

Con lo que respecta a los compuestos pertenecientes a la familia de los aldehídos en la cosecha del 28 de noviembre se identificaron al nonanal y decanal que tendieron a acumularse en 0 mM en riego por gravedad y en 3 mM en riego por goteo. Para los frutos pertenecientes a la segunda fecha analizada se identificaron otros aldehídos importancia en el aroma de la fresa como el acetaldehído y propanal (Yamashita *et al.*, 1976). El acetaldehído tendió a acumularse en el nivel de 9 mM (0.36%) en riego por gravedad y para riego por goteo en 20mM (0.21%), mientras que en el caso de propanal en riego por gravedad aumentó su concentración en 3 mM (0.67%) no así en riego por goteo donde varió la tendencia pues el máximo alcanzado fue en 0 mM (0.16%).

En cuanto al análisis de los compuestos pertenecientes a la familia de los alcoholes en los frutos del 28 de noviembre se observó que el etanol tendió a acumularse en 3 mM en ambos sistemas de riego (14.74 y 12.92% para gravedad y goteo respectivamente) mientras que el 5 de marzo para riego por gravedad la tendencia apuntó su máximo en 0 mM (28.63%) y para goteo fue en 9 mM (33.67%).

La importancia de los aldehídos y alcoholes radica principalmente en que también son precursores de los ésteres, y además como ya se mencionó anteriormente son los responsables de las notas verdes de las plantas y por lo tanto los perfiles aromáticos dominados por estos compuestos son característicos de los frutos inmaduros, esto se puede explicar que a consecuencia de una fertilización no adecuada (0 y 20 mM) hubo retraso en la maduración de los frutos y principalmente la concentración de aldehídos fue mucho mayor que en el resto de los niveles de fertilización.

El ácido acético y el etanol son compuestos que normalmente no son importantes en el aroma de la fresa, sin embargo se observó que en el material analizado hubo incremento en la

acumulación de estos compuestos debida al tiempo transcurrido desde el transporte del fruto desde el campo experimental de origen hasta el lugar donde se llevó a cabo el proceso de congelación adecuado, pero aún con esta problemática los resultados se consideraron representativos y comparables ya que todo el material analizado fue manejado de la misma forma.

De los ésteres identificados y cuantificados se identificaron el etil acetato y etil butanoato, que también son compuestos impacto en la calidad del aroma de esta fruta (Pérez *et al.*, 1992 y 1996; Larsen y Poll 1992). En los frutos cosechados el 28 de noviembre, en riego por gravedad, solo en el nivel de 9 mM se detectó etil acetato mientras que para los frutos cultivados en riego por goteo se cuantificó una mayor concentración de etil acetato en 3 mM (3.48%). Durante la segunda cosecha evaluada se pudo observar que en riego por gravedad el etil butanoato alcanzó su máximo en 9 mM (0.23%) mientras que en riego por goteo no se identificó el etil butanoato. Con lo que respecta al etil acetato se observa que en riego por gravedad su máxima acumulación se dió en los frutos cultivados sin fertilización y en goteo fue en la máxima concentración de nitrato evaluada (4.47 y 2.59%, respectivamente). En el 2003, Azondalou y col. a través de evaluaciones sensoriales y analíticas concluyeron que la concentración de butanoatos y hexanoatos determinan en gran medida la calidad organoléptica del fruto ya que éstos son los que le proporcionan el aroma característico a este fruto, así que es muy probable que la variación en concentración de los ésteres aquí descritos debido a la aplicación de diferentes niveles de fertilización y sistemas de riego afecte la precepción sensorial del fruto al ser consumido por el ser humano.

Es importante destacar que también se identificaron otros compuestos impacto en el aroma de la fresa como el mirtenol y el mirtenal, que son compuestos reportados como

marcadores moleculares de las variedades de fresa silvestres; éstos también fueron influenciados por los niveles de fertilización evaluados alcanzando sus máximas concentraciones a niveles de fertilización de 9 o 20 mM en la primer fecha analizada y en 3 o 9 mM de nitrato en la segunda fecha, esto independientemente del sistema de riego aplicado.

8. DISCUSIÓN

8.1 Análisis de los resultados obtenidos en invernadero

El fruto de fresa al ser un órgano de almacenamiento de compuestos carbonados refleja el estado metabólico de la planta. En este trabajo se observó de forma general que la concentración de los carbohidratos, aminoácidos, ácidos orgánicos, ácidos grasos y compuestos volátiles identificados en los frutos de fresa cultivada en invernadero se vio afectada por la aplicación de dosis crecientes de fertilización nítrica lo que sugiere que la calidad sensorial y nutrimental del fruto ha sido afectado también.

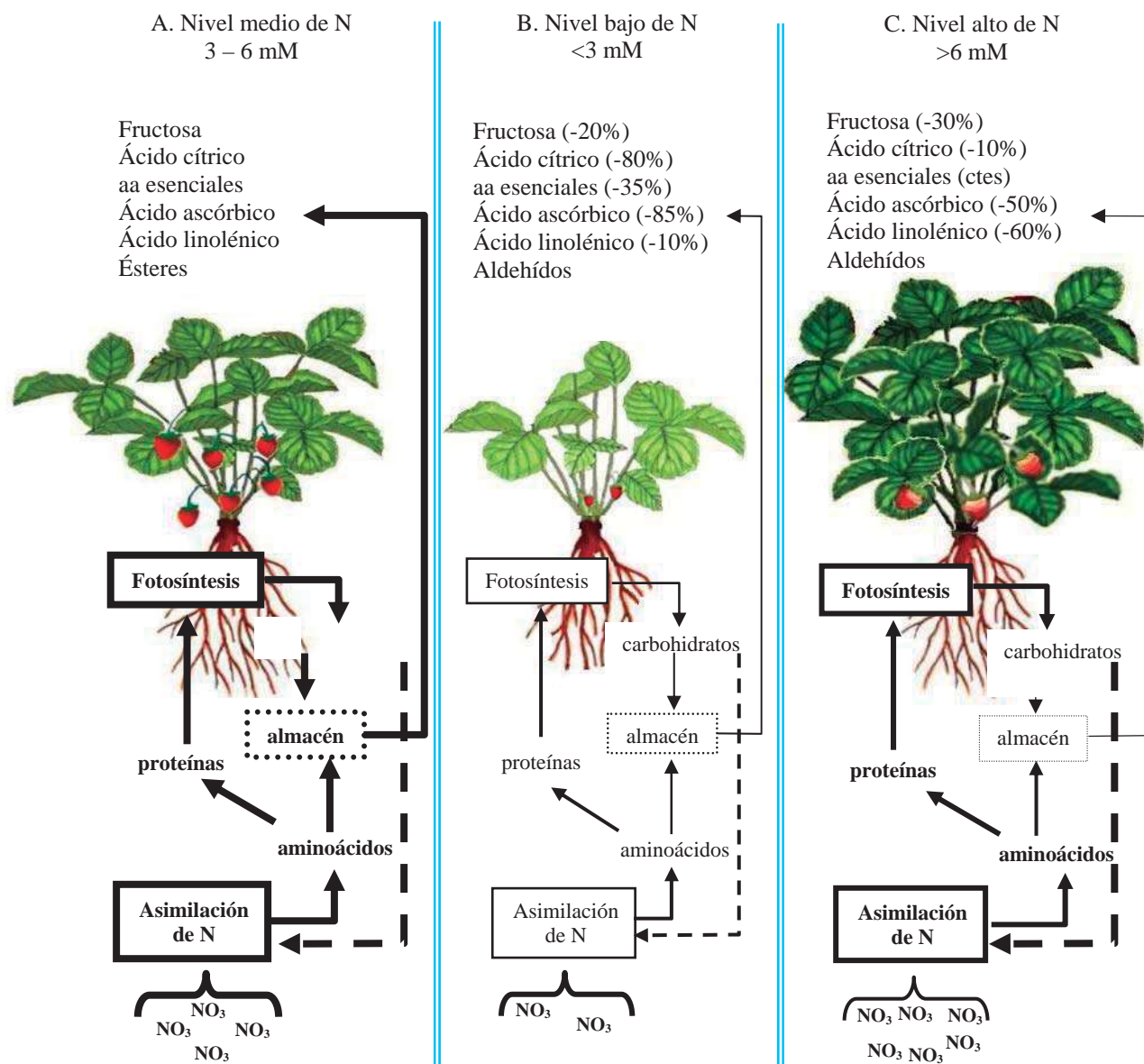
Los compuestos que contribuyen al sabor y aroma de la fresa han sido ampliamente estudiados y se sabe que la acumulación de los biomarcadores como los ésteres, junto con la fructosa y el ácido cítrico son esenciales para una calidad sensorial que satisfaga las expectativas del consumidor, sin embargo este fruto no solo espreciado por su sabor si no también por su valor nutrimental dado por la acumulación de compuestos bioactivos como los aminoácidos libres esenciales, el ácido ascórbico y el ácido linolénico, que se sabe son benéficos para la salud de quienes lo consumen (Quero y López, 2000; Cordenunsi *et al.*, 2002; Macías-Rodríguez *et al.*, 2002; Macías-Rodríguez, 2002; Azodanlou *et al.*, 2003).

En este trabajo al hacer el seguimiento de los biomarcadores por excelencia de la calidad sensorial de la fresa se observó que en el nivel intermedio de fertilización nítrica evaluado (3 y 6 mM) la estrecha relación entre el metabolismo del carbono y del nitrógeno está en equilibrio dando como resultado una planta con un desarrollo vegetativo normal y vigoroso que produjo frutos donde existió la acumulación significativa de todos los

biomarcadores de sabor y de valor nutrimental, además que su perfil aromático se vio caracterizado por ésteres. (Figura 14 A).

Esto fue diferente en el nivel bajo de N evaluado (0.3 mM) donde la planta no solo se caracterizó por ser de talla pequeña, con hojas cloróticas y bajo rendimiento si no también se observaron disminuciones drásticas en la acumulación de los biomarcadores como es el caso tanto del ácido cítrico como el ascórbico que bajó hasta 80 y 85%, respectivamente y es importante hacer mención que el perfil aromático de los frutos se caracterizó por una mayor acumulación de compuestos pertenecientes a la familia de los aldehídos (Figura 14 B). Esto se debe a que existe un desequilibrio metabólico a consecuencia de que la disponibilidad de asimilados nitrogenados es menor que lo que demanda la planta para sostener el proceso de fotosíntesis, por lo tanto la composición de los tejidos y el crecimiento de la planta son dispares, lo que se vio reflejado en la acumulación de los biomarcadores de calidad sensorial y nutrimental.

Figura 21. Acumulación de los principales biomarcadores de calidad sensorial y nutricional en frutos cosechados en invernadero.



Por otra parte en los frutos obtenidos de plantas que fueron cultivadas a la dosis de nitrato más alta (18 mM), además de observarse un desarrollo vegetativo excesivo de la planta, hubo disminución en la concentración de la mayoría de los biomarcadores de hasta un 60%, como fue el caso del ácido linolénico, además el perfil aromático fue dominado por los

aldehídos, característica típica de frutos inmaduros, lo que concuerda con lo establecido por May y Pritts (1990) que a dosis excesivas de N provocan el retraso en su maduración (Figura 14 C). Esta respuesta es debida a un desbalance metabólico provocado por una mayor asimilación de N que promueve el crecimiento vegetativo de la planta de tal forma que hay una mayor desviación de fotosíntatos hacia esta vía y que trae como consecuencia la disminución de las reservas de la planta, las cuales son las que sostienen energéticamente el proceso de fructificación. Por otra parte los productos directos del metabolismo del N, tienden a acumularse en diferentes órganos de la planta, como el fruto, esto fue observado en nuestro estudio pues a la dosis de 18 mM la concentración de aminoácidos permaneció constante lo que coincide con lo reportado por Haynes y Goh (1987) que mencionaron que al ser saturado el potencial de almacén de este órgano la concentración no aumenta aún cuando se siga aplicado más N, lo que sugiere que el potencial de almacenamiento del fruto fue saturado en el nivel intermedio de N evaluado (3-6 mM).

Estos resultados permiten concluir que en los frutos cosechados en invernadero los niveles de 3 y 6 mM de nitrato favorecen la acumulación de los compuestos relacionados a calidad sensorial y nutricional en fresa reportados con anterioridad por diferentes investigadores.

8.2 Análisis de los resultados obtenidos en campo

Los estudios que se han realizado en nutrición vegetal están enfocados principalmente a determinar los niveles de N requeridos por la planta para incrementar su rendimiento sin ser prioritaria la calidad organoléptica definida por los atributos sensoriales del fruto, que se sabe

están fuertemente influenciados por el fondo genético, las condiciones de cultivo y el estado nutricional de la planta (Dirink *et al.*, 1989; Prange y DeEll, 1997).

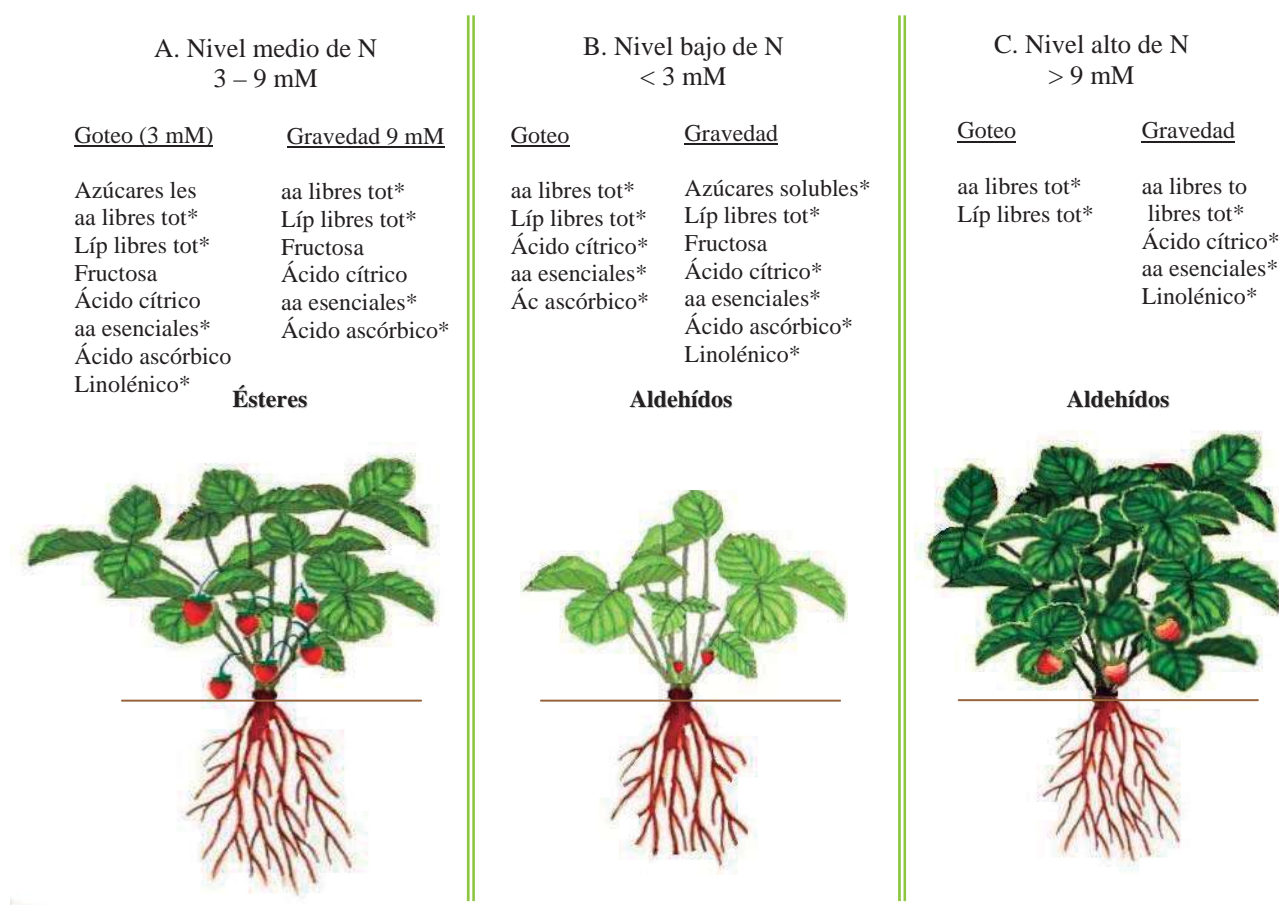
Los compuestos que contribuyen al sabor y aroma son un reflejo del estado metabólico de la planta que a su vez determina las características sensorial que busca el consumidor, al respecto Azodanlou y col. (2003) estableció que existe una correlación directa entre la acumulación de compuestos no volátiles (principalmente los carbohidratos libres totales) y el contenido de compuestos volátiles (principalmente ésteres) con la aceptación de los frutos por quienes lo consumen.

En este trabajo se observó de forma que la acumulación de los compuestos impacto en el sabor y aroma que se identificaron en los frutos de fresa establecidos en campo fue afectada por las prácticas de cultivo como lo fue el manejo en dosis crecientes de nitrógeno, aplicación de agua en sistema de riego por gravedad y goteo, además de que se observó una clara influencia de la fecha de cosecha sobre la calidad sensorial y nutricional del fruto.

Al realizar el seguimiento de los biomarcadores que determinan la calidad sensorial de la fresa se observó que en el nivel intermedio de fertilización nítrica evaluado (3-9 mM) hubo una acumulación de estos compuestos impacto en cuanto calidad sensorial y nutricional se refiere que fue significativa para el caso de aminoácidos y lípidos libres totales, aminoácidos esenciales, ácido linolénico y caracterizado por un perfil aromático rico en ésteres; éstos resultados muestran que en estos niveles existió un equilibrio metabólico adecuado entre los procesos de fotosíntesis y de asimilación de N de manera que la planta fue vigorosa y productiva. También se observó que la forma de riego tuvo una influencia importante en este comportamiento ya que en riego por goteo con una dosificación de 3 mM fue suficiente para lograr este efecto mientras que para riego por gravedad se necesitó la aplicación de 9 mM de

nitrato para lograr acumulaciones similares, esto debido a que como el sistema de riego por gravedad disminuye la disponibilidad del nitrato en el suelo, favorece los procesos de lixiviación y pérdidas gaseosas del nitrógeno, taryendo como consecuencia que se necesiten dosis más altas en la aplicación de los fertilizante nitrogenados. (Figura 22 A).

Figura 22. Acumulación de los principales biomarcadores de calidad sensorial y nutrimental en frutos cosechados en campo.



Lo que se observó respecto a los niveles bajos de N (<3 mM) fue que, en el caso de riego por goteo la acumulación significativa fue de los aminoácidos y lípidos libres totales, aminoácidos esenciales y los ácidos cítrico y ascórbico, pero con baja acumulación de carbohidratos como la fructosa; para el caso de riego por gravedad si se presentó la acumulación de los biomarcadores de calidad sensorial y nutrimental pero para ambos sistemas de riego su perfil aromático fue dominado por aldehídos.

En lo que respecta a los aminoácidos, Darnell y Stutte (2001) observaron que al aplicar diferentes niveles de nitrato en plantas de fresa, el mayor contenido de NO_3^- en el fruto se detectó cuando el nivel de NO_3^- externo fue el mínimo y que si se incrementa la concentración de NO_3^- externo no se incrementa éste en el fruto debido a una relocalización continua de N en otros órganos de almacén de la planta que además esta en función de la concentración de NO_3^- externo. En este trabajo observó que las plantas no fertilizadas en riego por gravedad acumularon más con respecto a las fertilizadas, mientras que en riego por goteo sucede lo contrario, esto puede deberse a que la forma de riego influye en la disponibilidad de NO_3^- en el suelo y por ende provoca una menor disponibilidad de asimilados nitrogenados que ocasiona que la planta sea pequeña, de hojas cloróticas y bajo rendimiento (Figura 22 B).

Por otra parte en los frutos obtenidos de plantas que fueron cultivadas a la dosis de nitrato mayores a 9 mM (Figura 22 C), se observó una disminución drástica de las concentraciones de los compuestos impacto, sobre todo en riego por goteo donde sólo se acumuló significativamente los aminoácidos y lípidos libres totales y aún cuando en riego por gravedad también se acumularon el ácido cítrico, los aminoácidos esenciales y el ácido linolénico el perfil aromático en ambos sistemas de riego fue dominado por los compuestos de la familia de los aldehídos Estos resultados son también reflejo del desbalance metabólico que

se ocasiona cuando existe una mayor asimilación de N, la cual requiere de una mayor inversión de fotosíntatos provocando disminución de estos compuestos en órganos de reserva como es el fruto.

Con lo que respecta a los sistemas de riego en combinación con los niveles bajos y altos de N parece que en gravedad se favorece la acumulación de los compuestos evaluados sin embargo hay que tomar en cuenta que la alta humedad que caracteriza éste sistema ocasiona pérdidas gaseosas y por lixiviación de nutrientes, además de que se ocasiona el desperdicio de agua y una reducción de fertilidad en el suelo.

Estos resultados permitieron concluir que en los frutos cosechados en campo el nivel medio de fertilización comprendido por las dosis de 3 y 9 mM de nitrato, además de la aplicación de agua en sistemas de riego por goteo, favorecieron la acumulación de los compuestos relacionados a calidad sensorial y nutricional en fresa; ésta observación es importante ya que mediante la optimización y el uso eficiente de fertilizantes y agua se obtiene frutos de buena calidad organoléptica además de disminuir el impacto ambiental y los costos económicos en la producción de fresa.

9. CONCLUSIONES

- La acumulación de los compuestos relacionados al sabor y aroma del fruto de fresa varía por efecto de la dosis aplicada de fertilizante nitrogenado y el sistema de riego utilizado en el cultivo de la planta.
- El nivel de 3 y 6 mM de nitrato favorecieron la acumulación de los compuestos impacto en la calidad sensorial y nutricional de los frutos cultivados en invernadero.
- Los niveles de 3 y 9 mM, así como el riego por goteo favorecieron la acumulación de los biomarcadores de la calidad organoléptica del fruto cultivado en campo.
- El segundo ciclo productivo de la planta de fresa en campo proporciona frutos de mayor calidad organoléptica.

• LITERATURA CITADA

- Archbold, D. D. 1996. Cultural systems:irrigation. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 117.
- Azodanlou, R., C. Darbellay., J. Luisier., J. Villettaz y R. Amado. 2003. Quality assessment of strawberries (*Fragaria Species*). J. Agric. Food Chem, 51: 715-721.
- Azondanlou, R., C. Darbellay, J. Luisier, J. Villettaz y R. Amado. 2004. Changes in flavour and texture during the ripening of strawberries. Eur. Food Res. Technol, 218:167-172.
- Branzati, E.C. 1989. La fresa. J.A. De la Iglesia Gonzáles y P. Hoyos Echeverria (Eds). Valencia. p. 43-76.
- Broun, P., S. Gettner y C. Somerville. 1999. Genetic engineering of plant lipids. Annu. Rev. Nutr, 19: 197-216.
- Burgess, C.M. 1997. Nutrition of new everbearing strawberry cultivars. Acta Hort, 439: 693-700.
- Buttery, R. 1989. Importance of lipid derived volatiles to vegetable and fruit flavor. En: Flovour chemistry of lipid foods. Min, D. y T. Smouse (Eds). American Oil Chemists' Society. Illinois. p. 156-167.
- Cárdenas-Navarro, R., S. Adamowicz., A. Gojon y P. Robin. 1998. Modelling nitrate influx in young tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants. J. Exp. Bot., 334(50): 625-635.
- Clark, G. A., E. E. Albergtis., C. D. Stanley., A. G. Samjstrla., F. S. Zazueta.1996. Water requirements and crop coefficients of drip-irrigated strawberry plants. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 118.

- Cordenunsi, B., J. Oliveira., M. Genovese y F. Lajolo. 2002. Influence of cultivar on quality parameters and chemical composition of strawberry fruits grown in Brazil. *J. Agric. Food Chem*, 50: 2581-2586.
- Darnell R. y G. Stutte. 2001. Nitrate concentration effects on NO₃-N uptake and reduction, growth, and fruit yield in strawberry. *J. Amer. Soc. Hort. Sci*, 125(5): 560-563.
- Darrow, G.M. 1936. Interrelation of temperature and photoperiodism in the production of fruitbuds and runners in the strawberry. En: *Strawberry*. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 91.
- Darrow, G.M. 1966. *The Strawberry*. En: *Strawberry*. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 95.
- Dirinck, P., H. De Pooter., G. Willaert y N. Shamp. 1981. Flavor quality of cultivated strawberries: the role of the sulfur compounds. *J. Agric. Food Chem*, 29: 316-321.
- Doorenbos, J. y W.O. Pruitt. 1986. *Las necesidades de agua por los cultivos*. FAO. Riego y drenaje. Roma, Italia.
- Durner, E.F. y E.B. Poling. 1988. Strawberry developmental responses to photoperiod and temperature: A review. En: *Strawberry*. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 90.
- Faby, A. 1997. Cultural systems: planting dates. En: *Strawberry*. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 113.
- FAO. 2003. <http://apps.fao.org>.
- FAO. 2004. <http://apps.fao.org>.
- Forney, C. y P. Breen. 1986. Sugar content and uptake in strawberry fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci*, 111: 241-247.

- Galleta, G.J y R.S. Bringhurst. 1990. Strawberry management. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 113.
- Gariglio, N.F., R.A. Pilatti y B.L. Baldi. 2000. Using nitrogen balance to calculate fertilization in strawberries. HortTech, 10(1): 147-150.
- Giovanardi, A. y B. Testolin. 1984. Structural developmental physiology: water relations. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 106.
- Guttridge, C.G. 1985. *Fragaria x ananassa*. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 90-95.
- Hancock, J.F. 1999. Strawberries. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 67-148.
- Hatanaka, A. 1993. The biogeneration of green odour by green leaves. Phytochemistry, 34: 1201-1218.
- Haynes, R. J. 1986. Mineral nitrogen in the plant-soil system. Academic press inc., New Zealand, 303-378.
- Haynes, R.J. y K.M. Goh. 1987. Effects of nitrogen and potassium applications on strawberry growth, yield and quality. Commun. Soil Sci. Plant Analysis, 18(4): 457-471.
- Ho, C y Q. Chen. 1994. Lipids in food flavors. En: Lipids in food flavors. Hong, C.y T. Hartman (Eds). American Chemical Society. Washington. p. 3-13
- Hochmuth, G.J. y E. Albregts. 1994. Fertilization of strawberries in Florida. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 119.
- Holt, R. 2001. Mechanisms effecting analysis of volatile flavour components by solid-phase microextracction and gas chromatography. J. Chromatogr. A, 937: 107-114

- Hong, Y., L. Huang., G. Reineccius., S. Harlander y T. Labuza. 1990. Production of aroma compounds from strawberry cell suspension cultures by addition of precursors. *Plant Cell Tiss. Organ Cult*, 21: 245-251.
- INEGI. 2005. Anuario Estadístico del Estado de Michoacán.
- Kader, A.A. 1991. Quality and its maintenance in relation to the postharvest physiology of strawberry. En: Luby, J.J. y A. Dale (Eds). *The strawberry into the 21st Century*. Timber Press. Portland, OR. p. 145-152.
- Kallio, H.P., M.A. Hakala y A.T. Lapveteläinen. 2002. Volatile compounds of selected strawberry varieties analyzed by purge-and-trap headspace GC-MS. *J. Agric. Food Chem*, 50:1133-1142.
- Kolb, A.1986. Cultural systems: nutrition. En: *Strawberry*. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 119.
- Larsen, M. y L. Poll. 1992. Odour thresholds of some important aroma compounds in strawberry. *Z. Lebensm. Unters. Forsch*, 195: 120-123.
- Larsen, M., L. Poll y C. Olsen. 1992. Evaluation of the aroma composition of some strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) cultivars by use of odour threshold values. *Z. Lebensm. Unters. Forsch*, 195: 536-539.
- Larson, K.D. 1994. Strawberry. En: *Strawberry*. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 90-112.
- Lawlor D. W. 2002. Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understandig production systems. *J. Exp. Bot*, 370(53): 773-787.

- Le Mière, P., P. Hadley., J. Darby y N. Battey. 1998. The effect of thermal environment, planting date and crown size on growth, development and yield of *Fragaria x ananassa* Duch. Cv. Elsanta. J. Hortic. Sci. Biotechnol, 73: 786-795.
- Lee, K.S. y A. Kader. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. Postharvest Biol. Technol, 20:207-220.
- Lieten, F. 1993. Cultural systems: tunnels and forcing systems. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kingdom. p. 124.
- Lieten, F. y C. Misotten. 1993. Nutrient uptake of strawberry plants (cv. Elsanta) grown on substrate. Acta Hort, 348: 299-306.
- Loewus, F y M. Loewus. 1980. Myo-inositol: biosynthesis and metabolism. En: The Biochemistry of Plants A Comprehensive Treatise. Stumpf, P y E. Conn. (Eds.). Academic Press. New York. p. 43-76.
- López-Galarza, S., J. Maroto., B. Pascual y M. Bono. 1993. Productive response of strawberry plants (*Fragaria x ananassa* Duch.) to different plant growth regulator mixes in Spain. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kingdom. p. 122.
- Luckner, M. 1990. Secondary metabolism in microorganisms, plants and animals. Springer-Verlag. Berlín. p. 102-118.
- Macías-Rodríguez, L., E. Quero y M.G. López. 2002. Carbohydrate Differences in Strawberry Crowns and Fruit (*Fragaria x ananassa*) during Plant Development. J. Agric. Food Chem, 50, 3317-3321.
- Macías-Rodríguez, L. 2002. Estudio molecular en corona y fruto de fresa (*Fragaria x ananassa*) en diferentes etapas de desarrollo de la planta y el efecto del clima. Tesis de grado de Doctorado en Ciencias. Irapuato, Guanajuato. p. 157.

- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press. Great Britain, 247-254.
- May, G. y M. Pritts. 1990. Strawberry Nutrition. Adv. Strawberry Prod, 9: 10-23.
- May, G. y M. Pritts. 1994. Seasonal patterns of growth and tissue nutrient content in strawberries. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 109.
- McNiesh, C.M., N.C. Welch y R.D. Elch. 1985. Trickle irrigation requirements for strawberries in Coastal Califórnia. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 118.
- Miner, G.S., E.B. Poling., D.E. Carroll., L.A. Nelson y C.R. Campbell. 1997. Influence of fall nitrogen and spring nitrogen-potassium applications on yield and fruit quality of 'Chandler' strawberry. J. Amer. Soc. Hort. Sci, 122(2): 290-295.
- Monroy J., J.A. Vera-Núñez., M.A. Carrera1., O.A. Grageda-Cabrera y J.J. Peña-Cabriales. 2002. Absorción de nitrógeno (^{15}N) y productividad del agua por el cultivo de fresa (*Fragaria x ananasa*) en "El Bajío", México. Terra, 20(1): 65-69.
- Mookherjee, B., R. Trenkle, R. Wilson, M. Zampino, K. Sands y C. Mussinan. 1986. Fruits and flowers: live vs. dead-which do we want?. En: Flavors and fragrances: a world perspective. Lawrence, E., B. Mookherjee y B. Willis (Eds.). Proceedings of the 10th international congress of essential oils, fragrances and flavors. Washington D.C. p. 415-424.
- Morot-Gaudry, J.F., J. Dominique y P.J. Lea. 2001. Aminoacid metabolism. En: Plant Nitrogen. Lea P.J y J.F. Morot-Gaudry (Eds.). Springer-Verlag. Berlín. p. 167-212.

- Nestby, R. 1998. Effect of N-fertigation on fruit yield, leaf N and sugar content in fruits of two strawberry cultivars. *J. Hort. Sci. Biotech*, 73: 563-568.
- Nestby, R., F. Lieten., D. Pivot., C. Raynal Lacroix y M. Tagliavini. 2005. Influence of mineral nutrients on strawberry fruit quality and their accumulation in plant organs: a review. *Inter. J. Fruit Sci*, 5(1): 141-158.
- Neuweiler, R. 1997. Nitrogen fertilization in integrated outdoor strawberry production. *Acta Hort*, 439: 747-751.
- Pawliszyn, J. 1997. Operating principles and construction of SPME devices. En: *Solid phase microextraction. Theory and practice*. Wiley, V.C.H (Ed). Library of Congress Cataloging in Publication Data. New York, NY. p. 346.
- Pérez, A., C. Sanz y J. Olías. 1993. Partial purification and some properties of alcohol acyltransferase from strawberry fruits. *J. Agric. Food Chem*, 41: 1462-1466.
- Pérez, A., J. Rios, C. Sanz y J. Olías. 1992. Aroma components and free amino acids in strawberry variety chandler during ripening. *J. Agric. Food Chem*, 40: 2232-2235.
- Pérez, A., R. Olías., C. Sanz y J. Olías. 1996. Furanones in strawberry: evolution during ripening and postharvest shelf life. *J. Agric. Food Chem*, 44: 3620-3624.
- Pérez, A., R. Olías., J. Espada., J. Olías y C. Sanz. 1997. Rapid determination of sugars, nonvolatile acids and ascorbic acid in strawberry and other fruits. *J. Agric. Food Chem*, 45: 3545-3549.
- Prange R. y J. DeEll. 1997. Preharvest factors affecting postharvest quality of berry crops. *HortSci*, 32(5), 824-829.

- Pritts, M y D. Handley. 1998. Strawberry production guide for the northeast, midwest, and eastern Canada. Northeast Reg. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 109-117.
- Quero, E. y M. López. 2000. Avances en el cultivo de la fresa. Ver 1. AGTEQ. Zamora, Michoacán, México.
- Renquist, A. 1984. Structural developmental physiology: water relations. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 106.
- Rosatti, P. 1991. The strawberry in Europe. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 123.
- Save A. 1993. Structural and developmental physiology: water relations. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 106
- Schieberle, P. 1994. Heat-induced changes in the most odour-active volatiles of strawberries. En: Trends in flavour research. Maarse, H.y D. Van der Heij (Eds.). Elsevier. Amsterdam. p. 345-351.
- Shamaila, M., T. Baumann, G. Eaton, W. Powrie y B. Skura. 1992. Quality attributes of strawberry cultivars grown in British Columbia. J. Food Sci, 57: 696-699.
- Shaw, D. 1988. Genotypic variation and genotypic correlations for sugar and organic acids of strawberries. J. Amer. Soc. Hort. Sci, 113: 770-774.
- Stanley, A. B. 1995. Soil nutrient bioavailability. John Wiley and Sons inc. USA, 48-201.
- Stitt, M., C. Müller., P. Matt., Y. Gibon., P. Carrillo., R. Morcuende., W. Scheible y A. Krapp. 2002. Steps towards an integrated view of nitrogen metabolism. J. Exp. Bot, 53: 959-970.

- Strand, L. 1994. Integrated pest management for strawberries. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 112-114.
- Voth, V. y R.S. Bringhurst. 1990. Culture and physiological manipulation of California strawberries. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 114.
- Watson, R., C.J. Wright., T. McBurney., A.J. Taylor y R.S.T. Linforth. 2002. Influence of harvest date and light integral on the development of strawberry flavour compounds. *J. Exp Bot*, 53: 2121-2129.
- Wyllie, S. G., D.N. Leach., H. N. Nonhebel y I. Lusunzi. 1996. Biochemical Pathways for the Formation of Steres in Ripening Fruits. En: Flavor science: Recents developments. Taylor A.J. y D.S. Mottram (Eds). Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- Yamashita, I., K. Iino y S. Yoshikawa. 1977. Studies on flavor development in strawberries. Biosynthesis of volatile alcohol and esters from aldehyde during ripening. *J. Agric. Food Chem*, 25: 1165-1168.
- Yamashita, I., Y. Nemoto y S. Yoshikawa. 1976. Formation of volatile alcohols and esters from aldehydes in strawberry. *Phytochemistry*, 15: 1633-1637.
- Yanagi, T. y Y. Oda. 1993. Effects of photoperiod and chilling on floral formation of intermediate types between June- and everbearing strawberries. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 98.
- Yang, X. y T. Peppard. 1994. Solid-phase microextraction for flavor analysis. *J. Agric. Food Chem*, 42: 1925-1930.

- Yoshida, Y., M. Ohi y K. Fujimoto. 1991. Fruits malformation, size and yield in relation to nitrogen and nursery plants in large fruited strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch. Cv. Ai-berry). J. Japan. Soc. Hort. Sci, 59(4): 727-735.
- Yoshida, Y., T. Goto., M. Hirai y M. Masuda. 2002. Anthocyanin accumulation in strawberry fruits as affected by nitrogen nutrition. Acta Hort, 567: 357-360.
- Zabetakis, I y M.A. Holden. 1996. Strawberry Flavour: Analysis and Biosynthesis. J. Sci. Food Agric, 74(4): 421 – 434.
- Zabetakis, I. y M. Holden. 1997. Strawberry flavour: analysis and biosynthesis. J. Sci. Food Agric, 74: 421-434.
- Zhang, B. y D.D. Archbold. 1991. Solute accumulation in leaves of *Fragaria chiloensis* and *F. virginiana* in response to water deficit stress. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 106-107.
- Zhang, B. y D.D. Archbold. 1993a. Solute accumulation in leaves of a *Fragaria chiloensis* and a *F. virginiana* selection responds to water deficits stress. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 106-107.
- Zhang, B. y D.D. Archbold. 1993b. Structural and development physiology. En: Strawberry. Hancock, J.F. (Eds). CABI Publishing. United Kindom. p. 106-107.