



UNIVERSIDAD PEDAGÓGICA Y TECNOLÓGICA DE COLOMBIA  
FACULTAD DE CIENCIAS - ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS - POSGRADOS  
PROGRAMA DE POSGRADO: MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



UNIVERSIDAD PEDAGÓGICA Y TECNOLÓGICA DE COLOMBIA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS-POSGRADO  
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICA

INFLUENCIA DE LA RADIACIÓN UV-B, SOBRE LA BIOSÍNTESIS DE  
ANTOCIANINAS EN FRUTOS DE MANZANA (*Malus domestica* Borkh)  
CV."ANNA" PARA CONDICIONES DE TRÓPICO ALTO EN BOYACÁ  
COLOMBIA

Requisito para optar el título de Magister en Ciencias Biológicas

Luis Alberto Gómez Sierra

Tunja  
Septiembre de 2019



UNIVERSIDAD PEDAGÓGICA Y TECNOLÓGICA DE COLOMBIA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS-POSGRADO  
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INFLUENCIA DE LA RADIACIÓN UV-B, SOBRE LA BIOSÍNTESIS DE  
ANTOCIANINAS EN FRUTOS DE MANZANA (*Malus domestica* Borkh.) CV  
“ANNA” PARA CONDICIONES DE TRÓPICO ALTO EN BOYACÁ

Requisito para optar el título de Magister en Ciencias Biológicas

Autor:

Luis Alberto Gómez Sierra

Director:

PEDRO JOSÉ ALMANZA MERCHÁN

PhD. Fisiología vegetal

Grupo de investigación GIPSO

UPTC

Tunja

Septiembre de 2019



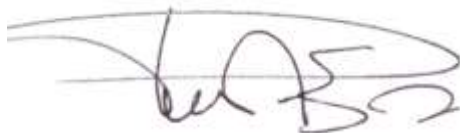
## CERTIFICADO DE ORIGINALIDAD

PEDRO JOSÉ ALMANZA MERCHÁN PhD. en Fisiología vegetal. Profesor,  
Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

### CERTIFICA:

Que el trabajo de grado realizado bajo mi dirección, por Luis Alberto Gómez Sierra titulado **“INFLUENCIA DE LA RADIACIÓN UV-B, SOBRE LA BIOSÍNTESIS DE ANTOCIANINAS EN FRUTOS DE MANZANA (*Malus domestica* Borkh.) CV “ANNA” PARA CONDICIONES DE TRÓPICO ALTO EN BOYACÁ”**, reúne las condiciones de originalidad requeridas para optar al título de Magister en Ciencias Biológicas otorgado por la Maestría En Ciencias Biológicas-UPTC.

Y para que así conste, firmo la siguiente certificación en Tunja a los 29 días de Septiembre de 2019



**PhD. Pedro José Almanza Merchán**

Director

Grupo de investigación GIPSO

Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.



## COMITÉ TUTORIAL

---

**Pedro José Almanza Merchán PhD**  
**Director**

---

**José Francisco García Molan**  
**PhD.**  
**Jurado 2**

---

**Elberth Hernando Pinzón**  
**MSc.**  
**Jurado 2**



Para  
*Flor adely*  
*Andrés, Lina Y Camilo*  
*Los fruticultores*



## AGRADECIMIENTOS

A Andrés, Lina y Camilo mis hijos y a Flor mi esposa, por todo el apoyo académico, económico y espiritual; por la motivación y paciencia durante el proceso de mis estudios de maestría. Sin ellos hubiera sido imposible.

A la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, por haberme albergado por un tiempo enriquecedor en sus aulas.

A mis profesores por darme nuevas luces para ignorar menos y disfrutar un poco mejor el misterio de la vida.

Agradezco a la Fundación Universitaria Juan de castellano y especialmente al Padre LUIS ENRIQUE PÉREZ OJEDA su rector, por el patrocinio y apoyo; e igualmente por permitirme liderar y utilizar el proyecto FRUTALES CADUCIFOLIOS, para mis trabajos de campo en manzana.

Al Dr. PEDRO JOSÉ ALMANZA MERCHÁN por su colaboración como director en mi proyecto de grado.

A los campesinos. Especialmente a los fruticultores de Boyacá, por su colaboración sabiduría y apoyos recibidos. Por sus habilidades profesionales incuestionables y por ser los mejores. Gracias a todos por su atención hacia mí y por la perfecta comprensión lograda, signo de gran sensibilidad, y humildad. Gracias también por llenar de colores, sabores y dulzura la vida y por poner en nuestra mesa el alimento de cada día



## RESUMEN

En la manzana roja, la coloración de la piel y las características fisicoquímicas, son factores importantes que determinan la calidad de los frutos; estos parámetros tienen un control de orden genético pero influenciado por condiciones ambientales en etapa de maduración de frutos. El color rojo está ligado a la biosíntesis de antocianinas, que son un grupo de pigmentos de color rojo, hidrosolubles, producto del metabolismo secundario mediado por luz UV, Y ampliamente distribuidos en el reino vegetal. En el presente estudio se determinó el IUV, se cuantificó antocianinas totales y se analizaron SST en frutos maduros de manzana cv “ANNA” cultivados en diferentes altitudes en localidades de Boyacá: Soracá a 2820 m.s.n.m, Tuta a 2640m.s.n.m y Nuevo Colon a 2450 m.s.n.m. Los resultados mostraron que en la localidad a mayor altitud (Soracá), el valor promedio del IUV fue mayor (14.9) y la acumulación de antocianinas totales igualmente fue el más alto (25.4 mg/100g). Se ha encontrado una correlación positiva entre la intensidad de la radiación UV, altitud y concentración de antocianinas totales, mientras que para los SST no se encontraron diferencias significativas.

**Palabras clave:** Altitud, antioxidante, pigmentos, luz.

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN .....	7
---------------	---



<b>ABSTRACT</b> .....	¡Error! Marcador no definido.
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	13
<b>1. OBJETIVOS E HIPÓTESIS</b> .....	16
1.2 Objetivos específicos.....	16
1.3 Hipótesis.....	16
<b>2. MARCO CONCEPTUAL</b> .....	17
2.1 Antecedentes.....	17
2.2 Marco conceptual .....	22
2.2.1 La manzana ( <i>Malus domestica</i> borkh).....	22
2.2.2 El cultivar “ANNA”.....	23
2.2.3 La polinización.....	24
2.2.4 Cosecha .....	24
2.2.5 Las antocianinas.....	25
2.2.6 Las antocianinas y las respuestas al estrés. ....	27
2.2.7 Protección contra la Radiación Ultravioleta .....	29
2.2.8 Respuestas contra la radiación UV-B.....	29
2.2.9 Efecto de la calidad de la luz sobre la biosíntesis de flavonoides en frutas .....	31
2.2.10 Análisis de antocianinas por espectrofotometría UV-Vis.....	32
2.2.11 Radiación ultravioleta .....	33
2.2.12 Índice UV (IUV).....	34
2.2.13 Luz ultravioleta en altitud.....	35
2.2.14 Radiación uv en frutas.....	35
2.2.14 Propiedades de la luz y la radiación solar. ....	36
2.2.15 Percepción de la luz .....	37
<b>3. METODOLOGÍA</b> .....	39
3.1 Área de estudio.....	39
3.2 Labores de campo .....	39
3.3 Diseño experimental .....	41
3.3 Métodos de laboratorio. ....	42
3.4 Análisis estadístico .....	44
<b>4. RESULTADOS</b> .....	44
4.1 Índice Ultravioleta (IUV) .....	44
4.2 Cuantificación de antocianinas totales.....	46





4.3 Sólidos Solubles .....	48
<b>5. DISCUSIÓN .....</b>	<b>49</b>
5.1 Índice de radiación UV (IUV) .....	49
5.2 Antocianinas totales.....	50
<b>6. Conclusiones .....</b>	<b>53</b>
<b>7. Recomendaciones .....</b>	<b>53</b>
<b>8. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>54</b>

### ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Centros de origen de algunas de las principales especies pertenecientes a Malus. Fuente. Angelini 2000 .....	22
<b>Figura 2.</b> Árboles de manzana “Anna” cultivados en Soracá Boyacá FUENTE: El autor.....	23



<b>Figura 3.</b> Propiedades químicas y organolépticas de los frutos maduros de manzana .....	25
<b>Figura 4.</b> Estructura química de las moléculas de antocianinas y antocianidinas. ....	25
<b>Figura 5.</b> Espectros UV-Vis de las antocianinas aciladas y 3,5-glicosiladas (línea continua); no aciladas y 3-glicosiladas (línea discontinua) Fuente: (Santa Cruz 2011) .....	32
<b>Figura 6.</b> El espectro de radiación solar que llega desde los rayos gamma a las ondas de radio con una visión más cercana de las longitudes de onda visibles y los fotorreceptores de las plantas que absorben regiones específicas de longitud de onda . CRY, criptocromos; Phy, fitocromos; FHOT, fototropinas; UV, ultravioleta; UVR8, fotorreceptor UV-B. FUENTE: Zoratti et al., 2014 .....	37
<b>Figura 7.</b> Ubicación geográfica de los municipios de Soracá, Tuta y Nuevo Colon en el Departamento de Boyacá, donde fue realizado el estudio. Fuente: el autor. ....	39
<b>Figura 8.</b> Referencia geográfica satelital, de la ubicación de los cultivos en cada una de las zonas de estudio: A) Localidad de Soracá; B) Localidad de Tuta Y C) Localidad de Nuevo Colón.....	40
<b>Figura 9.</b> Representación esquemática del plano de campo en el que se representan cada una de las zonas de estudio 1) zona Soracá a 1820 msnm; 2) Zona de Tuta a 2640 msnm; 3) Zona Nuevo Colon a 2450 msnm .....	41
<b>Figura 10.</b> Espectrofotómetro uv en el cual se hizo análisis de absorbancia para extractos de pigmentos en manzana. ....	43
<b>Figura 11.</b> Refractómetro de alimentos HI 96811 donde se realizó la determinación de sólidos solubles. ....	44
<b>Figura 12.</b> Correlación entre la altitud de cada zona y el IUV incidente (A) y comportamiento diario del IUV para cada zona, durante la etapa de maduración de frutos (B). Las barras de error representan las SDs entre las zonas independientes. Diferentes líneas en las barras indican diferencias significativas entre las zonas "*****" indica $P < 0,0001$ .....	46
<b>Figura 13.</b> Correlación pareada entre la acumulación promedio de antocianinas totales con respecto a la altitud de las zonas de estudio (A). y concentración de sólidos solubles totales para las muestras de cada zona (B) Asteriscos sobre las líneas de error indican SDs entre las zonas independientes. "*****" indica $P < 0,0001$ . Valores cercanos a 0 indican correlación negativa.....	47
<b>Figura 14.</b> Correlación pareada entre la acumulación de antocianinas totales por repetición respecto a la altitud de las zonas de estudio (A). y concentración de sólidos solubles totales para las muestras de cada zona (B).....	60
<b>Figura 15.</b> Correlación entre la acumulación de antocianinas totales en las zonas de estudio, y el IUV incidente. Se demuestra que a una mayor altitud (Soracá), el IUV es mayor y por lo tanto la acumulación de antocianinas se incrementa. ....	49



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Categoría de exposición a la radiación ultravioleta.....	35
<b>Tabla 2.</b> Descripción de tratamientos .....	42
<b>Tabla 3.</b> Valores del IUV registrados en cada una de las zonas de estudio, durante la etapa de maduración de frutos.....	45
<b>Tabla 4.</b> Valores promedio de antocianinas totales y SST hallados en los frutos de manzana en cada una de las zonas de estudio respecto del IUV.....	49



## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1</b> Frutos maduros de manzana “Anna” cosechados a los 120 días de plena floración en Soracá (A), Tuta (A) y Nuevo Colon (C).....	72
<b>Anexo 2</b> Tabla de registro del índice ultravioleta (IUV) durante los 30 días de diciembre de 2018 en las 3 zonas de estudio.....	73
<b>Anexo 3</b> Tabla de registro de absorbancia, antocianinas totales, °Brix, para repeticiones de cada zona y sus respectivas altitudes y altitudes.....	73



## INTRODUCCIÓN

Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos más importantes de compuestos bioactivos en las plantas alimenticias; estos poseen diversos roles de señalización y defensa. En frutas y bayas, los flavonoides y los ácidos hidroxycinámicos son los principales compuestos fenólicos. Los flavonoides son determinantes importantes de la calidad y el valor económico de las frutas, ya que tienen efecto sobre el color, el aroma, la astringencia y las propiedades antioxidantes (Zoratti et al., 2014; He & Giusti, 2010).

La manzana (*Malus domestica* Borkh) es un cultivo frutal muy apreciado y ampliamente cultivado en todo el mundo. Desde la perspectiva del consumidor, las manzanas con cáscara roja son preferidas ya que dicho color se relaciona con la calidad, su aspecto y valor nutritivo (Li et al., 2018; Ma et al., 2019).

El color de los frutos de manzana oscila entre el rojo oscuro y el amarillo en la parte exterior y es una de las principales características económicas y de calidad superior, junto con el peso y la dulzura de la fruta, lo que influye en las decisiones de compra de los consumidores (He & Giusti 2010; Onik et al., 2019).

El color rojo de la piel de la manzana se debe a la presencia de antocianinas (Vimolmangkang et al., 2014), una fuente natural de antioxidantes con un alto valor nutritivo y posibles beneficios para la salud (Titta et al., 2010; Van Den Ende et al., 2014; Yousuf et al., 2016). Las antocianinas son un grupo de pigmentos ampliamente distribuido, solubles en agua, que colorean la fruta y las flores de muchas plantas (Aguilera et al., 2011; Falcone et al., 2012). Se han identificado más de 650 antocianinas diferentes, que se distinguen por metilación, hidroxilación, glicosilación y acilación con grupos alifáticos y aromáticos (Appelhagen et al., 2018) El color de las antocianinas está influenciado por el grado de acilación aromática, el pH, la copigmentación con otros compuestos fenólicos, la formación de complejos metálicos y puede variar desde el naranja, pasando por el rojo, el rosa y el púrpura hasta el azul (Yoshida et al., 2009). Se biosintetizan a través de la vía flavonoide que involucra a muchos genes estructurales y reguladores relacionados con el ambiente (Ma et al., 2019).

Las antocianinas han estado implicadas en la tolerancia a factores estresantes tan diversos como la sequía, los rayos UV-B y los metales pesados, así como en la resistencia a los herbívoros y a los patógenos. Al absorber cuantos de alta energía, las vacuolas de células antocianinas protegen los cloroplastos de los fotoinhibidores y fotooxidantes de la luz fuerte, y previenen el catabolismo de los compuestos fotolábiles de defensa. Las antocianinas también mitigan el daño fotooxidativo en las hojas por la eliminación de radicales libres y especies reactivas de oxígeno. Lejos de ser un subproducto inútil de la vía flavonoide, estos pigmentos rojos pueden en algunos casos ser críticos para la supervivencia de las plantas (Gou, 2004.)

La acumulación de antocianinas en las plantas puede ser regulada por la luz y las hormonas vegetales (Zhang et al., 2016). Bajo condiciones de luz, los fotorreceptores de plantas perciben y transducen señales de luz para regular la biosíntesis de antocianinas (Jaakola 2013). Los fotorreceptores clásicos



incluyen fitocromos (PHY), criptocromos (CRY) y fototropinas (PHOT) que perciben señales de luz que van desde ultravioleta UV-A, hasta el rojo lejano (Li Y2012). La exposición a la radiación UV-B promueve la biosíntesis de antocianinas, lo que resulta en la unión y activación de regiones promotoras de genes MdMYB en la cáscara de manzana. UVR8 es un fotorreceptor UV-B que desempeña funciones vitales en la inducción de la biosíntesis de flavonoides por los rayos UV-B, y la defensa de las plantas contra los mismos (Ma et al., 2019). Las antocianinas juegan un papel fotoprotector bajo ciertas condiciones de estrés, como la alta exposición a la luz (Hoch et al., 2003).

La función fotoprotectora de las antocianinas puede atribuirse principalmente a la eliminación directa de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Gould et al., 2002; Kytridis & Manetas 2006). Varios sistemas antioxidantes enzimáticos están presentes en las células, incluyendo el superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), peroxidasa (POD), ascorbato peroxidasa (APX), glutatión reductasa (GR), monodehidroascorbato reductasa (MDHAR), glutatión peroxidasa (GPX), y glutatión-S-transferasa (GST), que trabajan en conjunto para prevenir la oxidación incontrolada (Ma et al., 2019). En las manzanas, la relación entre la biosíntesis de antocianinas y los sistemas antioxidantes depende de las condiciones de luz. A diferencia del cultivar no rojo "Golden Delicious", los sistemas antioxidantes en cultivares rojos procedentes de "Red Delicious" como en el caso de manzana "Anna," están inicialmente regulados por las antocianinas durante la exposición a la luz solar (Ma et al., 2019).

La luz es uno de los factores ambientales más importantes que afectan la biosíntesis de flavonoides en las plantas. La dependencia absoluta de la luz para el desarrollo vegetal ha impulsado la evolución de mecanismos sofisticados para detectar y transducir múltiples aspectos de las señales de la luz. Los efectos de luz se pueden clasificar en fotoperíodo (duración), intensidad (cantidad), dirección y calidad (longitud de onda) incluyendo luz UV. (Zorati et al., 2014). Recientemente, nueva información ha sido logrado en la regulación de la biosíntesis de flavonoides controlados por luz en frutas, en el que los flavonoides tienen una importante contribución a la calidad. Las antocianinas son metabolitos secundarios que no sólo desempeñan un papel significativo en la pigmentación, sino que también tienen funciones antioxidantes (Jia et al., 2011; Rafique et al., 2016) y antitumorales, protegen contra las enfermedades coronarias y ayudan a defenderse contra los patógenos y la radiación ultravioleta (Jía et al., 2011 ) La acumulación y distribución de antocianinas están regidas por redes metabólicas reguladas por condiciones genéticas y ambientales; también están fuertemente correlacionadas con la expresión de los genes estructurales y regulatorios (Li et al., 2019).

Las antocianinas son pigmentos flavonoides producidos por la mayoría de las plantas de semillas como parte de la vía del fenilpropanoide. Son derivados glicosilados de antocianidinas (cianidina, pelargonidina, delfinidina y otras) que se acumulan dentro de las vacuolas y confieren colores profundos y puros a las flores, frutas y órganos vegetativos (Grotewold, 2006). Las antocianinas son importantes para atraer polinizadores y agentes de dispersión de frutas; en los tejidos vegetativos, se cree que actúan como fotoprotectores contra la radiación y la radiación UV, como secuestradores de radicales libres (Gould, 2004). Las



modificaciones más comunes de las antocianinas son la glicosilación, la metilación y la acilación (Chanoca et al., 2015).

Los mecanismos que subyacen al desarrollo y maduración de la fruta son críticos e importantes puntos de investigación, debido a su íntima relación con la calidad de la fruta. La maduración de los frutos, que es un proceso fisiológico natural del ciclo de vida de la planta, implica una serie de reacciones físicas, fisiológicas y bioquímicas (Giovannoni 2017). Entre estas reacciones, la pigmentación que da lugar a la coloración es un marcador fenotípico natural y excelente para el grado aparente de madurez del fruto y también puede actuar como un sistema modelo para estudiar el mecanismo que subyace a la regulación de la maduración y coloración del fruto de manzanas rojas (Li et al., 2019).

La manzana es una especie frutal caducifolia originaria de zonas templadas (Agustí 2008). Algunos cultivares como la manzana “Anna” se adaptan a ambientes tropicales y subtropicales, esto si se cultivan en zonas de altitud (>2.400 msnm), dadas sus necesidades de acumulación de frío para el cumplimiento de procesos fisiológicos normales

Gómez (1980) referencia a autores como Schroeter (1908) y Mirande (1922) los cuales observaron que las corolas de las flores de alta montaña presentaban una coloración más intensa que las plantas pertenecientes a zonas de menor altura; estos autores concluyeron que la intensa pigmentación era debida al efecto del UV-cercano. Se ha observado (con escasa documentación) que manzanas cultivadas a mayor altitud en Boyacá presentan una coloración roja más intensa, por lo que se esperaría que la biosíntesis de antocianinas se viera incrementada como un mecanismo de defensa contra el UV-B, ya que la radiación UV que llega a la superficie de la tierra aumenta con la altitud y disminuye con la latitud (Carbonell et al., 2014). Por lo anterior este estudio tuvo como objetivo la cuantificación de antocianinas totales en cascarras de manzana “Anna” cultivadas a tres altitudes diferentes e influenciadas por la radiación UV en el departamento de Boyacá.



## OBJETIVOS E HIPÓTESIS

### **Objetivo general**

Evaluar la influencia de la radiación UV-B, sobre la biosíntesis de antocianinas totales en frutos de manzana cv “Anna” cultivados en zonas de trópico alto con diferentes altitudes en el departamento de Boyacá.

### **1.2 Objetivos específicos**

- Determinar el índice promedio de radiación UV-B incidente, en tres zonas productoras de manzana cv ‘Anna’ con diferente altitud ubicadas en el departamento de Boyacá.
- Cuantificar las antocianinas totales y Solidos solubles totales como parámetros de calidad en frutos maduros de manzana cv Anna, cultivados en tres zonas con diferente altitud ubicadas en el departamento de Boyacá.

### **1.3 Hipótesis**

La cuantificación de antocianinas totales y solidos solubles totales en frutos de manzanas “Anna” cultivadas a mayor altitud, se incrementara dada una mayor incidencia de la radiación UV-B, por condiciones de mayor altitud.





## 2. MARCO CONCEPTUAL

### 2.1 Antecedentes

Estudios previos a la cosecha mostraron una mejora de los niveles de antocianinas como respuesta a la irradiación UV en manzanas (Arakawa et al., 1985) y piel de cerezo dulce (Arakawa, 1993); Kataoka et al., 1996). Más recientemente, se ha demostrado que el tratamiento de irradiación con UV-B aumenta el contenido de antocianinas y la expresión de los genes de la vía *MdMYB* y antocianinas en la piel de manzana (Ban et al., 2007; Peng et al., 2013). Igualmente tratamientos con I, la exposición de las frutas después de la cosecha a la luz visible suplementada con UV-B aumentó el contenido de flavonoides totales, y en particular los glucósidos y antocianinas de quercetina, esto en frutas cultivadas a la sombra del cultivar Aroma (Hagen et al., 2007).

Otro tratamiento posterior a la cosecha con luz UV-B visible mostró resultados similares en pera europea (*P. communis*) y la pera de arena china (*P. pyrifolia* Nakai) (Qian et al., 2013; Sun et al., 2014). La radiación UV-B también aumentó significativamente los niveles de flavonoides, especialmente los flavonoles, en la pulpa de las frutas de tomate poscosecha en la etapa verde maduro (Castagna et al., 2014).

La acumulación de pigmento en la piel de las manzanas, resulta del nivel de expresión de los genes de biosíntesis de antocianina durante la maduración (Seon Ae Kim et al., 2015). En investigación realizada por Bai et al. 2014), mostraron que una proteína B-box en manzana y el gen *MdCOL11* homólogo de *AtBBX22* *vitis vinífera*, están involucrados en la respuesta a radiación UV-B y la biosíntesis de antocianinas inducida por la temperatura en la cáscara de manzana.

Takos et al., (2006) hallaron que el factor de transcripción *MdMYB1* de células de uva *Vitis vinífera*, estimuló la transcripción de los promotores de dos genes de manzana, que codifican enzimas biosintéticas antocianicas. Han indicado estos mismos autores que en la maduración de la fruta de manzana, la transcripción de *MdMYB1* se correlacionó con la síntesis de antocianina en los sectores de la piel roja de la fruta. Del mismo modo indican que cuando los frutos de crecimiento oscuro fueron expuestos a la luz solar, los niveles de transcripción de *MdMYB1* aumentaron durante varios días, correlacionándose con la síntesis de antocianina en la piel. Las transcripciones del gen *MdMYB1* fueron más abundantes en los cultivares de manzana de piel roja; en comparación con los cultivares de piel no roja. Concluyeron que el factor de transcripción *MdMYB1*, regula coordinadamente los genes en la vía antocianina y el nivel de expresión de este regulador es la base genética del color de la piel de la manzana.

Takahashi et al., (1991) mediante cultivos en suspensión de células de *Centaurea cyanus* L., en los que indujeron biosíntesis de antocianina por iluminación con luz blanca que emitía UV controlando el nivel de pigmentación, examinaron la sensibilidad de las células a la irradiación UV-B y UV-C y la formación de dímero de pirimidina como resultado de la exposición a



la luz UV, con especial referencia al nivel de acumulación de pigmento antociánico en las células. Comprobaron que la sensibilidad de las células a los rayos UV-B o UV-C disminuyó a medida que aumentaba su contenido de antocianinas. Además, encontraron que el grado de formación de dímeros de pirimidina inducidos por la irradiación con luz UV-B o UV-C se reducía en las células con antocianina acumulada. Tanto el grado de resistencia a la irradiación UV como la reducción de la formación de dímeros como resultado de la exposición a la luz UV, se correlacionaron con los niveles de pigmento antociánico acumulado en las células. Los resultados muestran que la antocianina, un tipo de flavonoide, desempeña un papel en la protección de las células de los efectos adversos de la luz UV.

Se han realizado tratamientos poscosecha con luz ultravioleta para mejorar la calidad del fruto. La mayoría de estos estudios se han realizado con radiación UV-C, que es más energética y puede disminuir rápidamente la incidencia de patógenos en las frutas. La radiación UV-B se ha aplicado después de la cosecha con el propósito especial de aumentar los contenidos de metabolitos secundarios con acción bioactiva en la salud (Falcone et al., 2012).

Los compuestos flavonoides, las proantocianidinas (PA), protegen a las plantas del estrés biótico, contribuyen al sabor de muchas frutas y son beneficiosas para la salud humana, en forma de antioxidantes dietéticos. Al respecto Tian et al., (2017), caracterizaron funcionalmente dos factores de transcripción de *Malus crabapple* R2R3-MYB, McMYB12a y McMYB12b, que co-regulan los PA y la biosíntesis de antocianinas. Demostraron que McMYB12a es el principal responsable de la regulación positiva de la expresión de genes biosintéticos de antocianinas mediante la unión a sus promotores, pero solo es parcialmente responsable de regular los genes biosintéticos de las PA. Finalmente el estudio revela un nuevo mecanismo para la regulación coordinada de las PA y la acumulación de antocianinas en las hojas de manzano silvestre, que depende de un equilibrio autorregulador que implique la expresión de McMYB12a y McMYB12b.

Por su parte Ma et al., (2019), concluyen que las diferencias en los niveles de antocianinas entre manzanas "Granny Smith" y "Golden Delicious" pueden explicarse por acumulación diferencial de ARNm específico del gen MdMYB1 y que los diferentes niveles de transcripciones MdMYB1 en los dos cultivares están asociados con los niveles de metilación en la región promotora. La hipometilación del promotor MdMYB1 está correlacionada con la formación de pigmentación roja en las pieles de fruta "Granny Smith". Como resultado, la pigmentación roja en Granny Smith fue más intensa que en las frutas "Golden Delicious".

El color rojo de las manzanas es un rasgo atractivo para los consumidores. La pigmentación de manzanas rojas está determinada por genes que se activan con la radiación UV. El cultivar "Granny Smith" de piel verde desarrolla pigmentación roja después del tratamiento de embolsado con metilación del ADN. Según Ma et al., (2018), La metilación del ADN juega un papel importante en varios procesos de desarrollo en las plantas. Para explorar las posibles funciones de la metilación del ADN en la pigmentación de manzanas "Granny Smith", los autores analizaron el contenido de antocianinas de la piel



de la fruta después del tratamiento con ADN inhibidor de metiltransferasa 5-aza-20 -desoxicitidina (5-aza-dC). Revelaron un aumento en contenido de antocianinas en frutas en bolsas después del tratamiento con 5-aza-dC, mientras que no encontraron antocianinas en frutos sin tratamiento. Cambios en la expresión de estos genes puede ser responsables de la pigmentación roja inducida por 5-aza-dC en frutos "Granny Smith". Los hallazgos proporcionan evidencia novedosa de la participación de la metilación del ADN en la pigmentación roja de las manzanas no rojas.

En las fresas inmaduras, la luz azul aumentó significativamente la biosíntesis de antocianinas y la expresión de *FaCHS* después de cuatro días de tratamiento (Kadomura-Ishikawa et al., 2013). En las bayas de uva tratadas con luz de diodo emisor de luz (LED), las concentraciones de antocianinas fueron más altas en la piel tratada con luz azul, seguida del tratamiento con luz roja (Kondo et al., 2014). En el mismo estudio, también se detectaron diferencias en el perfil de antocianinas y, especialmente, los glucósidos de malvidina aumentaron hacia la cosecha en la piel tratada con LED azul y rojo, a diferencia de los controles no tratados (Barnes et al., (1987) en plantas recolectadas en sitios ecuatoriales y alpinos donde la irradiación solar UV-B es alta, mostraron que no hubo ningún daño inducido por UV-B cuando expusieron a radiación UV-B suplementaria bajo un espectro solar completo en campo. Hubo acumulación significativa de pigmentos en hojas que absorben los rayos UV y ocurrió sólo en poblaciones de latitudes más altas donde la pérdida de ozono ha contribuido a una mayor radiación UV.

Entre tanto Oikos et al., (2019), realizaron una investigación con manzanas de maduración temprana en poscosecha, en la que aplicaron UV-C en frutos almacenados, manejando temperaturas de 4°C y 20 °C. Después de 14 días de almacenamiento analizaron azúcares simples (glucosa, sacarosa y fructosa) y los ácidos orgánicos (málico y oxálico). Encontraron que en manzanas almacenadas a 4°C, el malato es significativamente mayor, mientras que en las frutas tratadas con UV-C almacenadas a 20°C disminuyó significativamente. El contenido de azúcar en las frutas fue similar para las dos temperaturas en todas las frutas tratadas con UV-C. Las proporciones más altas de azúcares totales y ácidos orgánicos totales en las frutas tratadas con UV-C después de 14 días; sugieren que el tratamiento con UV-C tiene el potencial de mejorar el sabor de los cultivares de manzana de maduración temprana.

Zorati et al (2014) encontraron que tres tratamientos en arándanos con luz monocromática, tuvieron un efecto positivo significativo en la acumulación de antocianinas totales en frutos maduros, en comparación con el tratamiento con luz blanca o con plantas mantenidas en la oscuridad. Los elevados niveles de antocianinas se debieron principalmente a un aumento significativo en la acumulación de glucósidos de delphinidina.

Se ha encontrado que las especies de gramíneas como *Deschampsia antarctica*, *Deschampsia borealis* y *Calamagrostis epigeios* que crecen en regiones con niveles elevados de radiación solar UV-B tienen altos niveles constitutivos de flavonoides como las flavonas orientina y luteolina, que protegen a las plantas contra esta condición de estrés (Van De Staaij et al., 2002). De manera similar, las plantas de maíz que crecen a gran altura



acumulan flavonas C- glucosilo en las hojas, maysin y su precursor biosintético, ramnosilisoorientina, flavonas que se encuentran comúnmente en las sedas, como un mecanismo que previene el daño causado por la alta exposición a los rayos UV-B (Zhang et al., 2003 ; Casati y Walbot, 2005).

Falcone et al., (2012). Han documentado que Niveles de transcripción más altos están presentes en plantas de gran altitud donde hay altos niveles de radiación UV-B que en bajas altitudes. En consecuencia, considerando el papel protector de los flavonoles a la radiación UV-B, hipotetizan que los altos niveles de transcripción de los genes *ZmFLS* también pueden contribuir a la adaptación a esta condición de estrés con flujos UV-B más altos.

Estudio realizado por Li et al., (2019) reveló que el Ácido Absísico (ABA) se acumuló durante la maduración de la fruta de *Lycium*, y esta acumulación fue correlacionada positivamente con los contenidos de antocianina y los niveles de transcripción *LbNCED1*. La aplicación de ABA exógeno y del inhibidor de la biosíntesis de ABA fluridón, aumentaron y disminuyeron el contenido de antocianinas en la fruta de *Lycium*, respectivamente. Este es el primer informe que muestra que ABA promueve la acumulación de antocianinas en frutos de *Lycium*. Las variaciones en el contenido de antocianinas fueron consistentes con las variaciones en la expresión de los genes que codifican el complejo del factor de transcripción MYB-bHLH-WD40 o enzimas relacionadas con la biosíntesis de antocianinas. El silenciamiento del gen *LbNCED1* inducido por virus disminuyó significativamente la coloración de la fruta y disminuyó ambas antocianina y acumulación de ABA durante la maduración de la fruta de *Lycium*.

Chanoca et al., (2015) Descubrieron que los agregados de antocianinas citoplasmáticas en contacto cercano con la superficie vacuolar son directamente englobados por la membrana vacuolar en un proceso que recuerda a la microautofagia. Los agregados de antocianinas envueltos están rodeados por una única membrana derivada del tonoplasto y eventualmente se liberan en la luz vacuolar como un cuerpo autofágico. Ni el tráfico endosómico / prevacuolar, ni la proteína autofagia ATG5 están involucrados en la formación de agregados antociánicos intravacuolares (AVI). En *Arabidopsis*, la formación de AVI se promueve tanto por un aumento en los derivados de cianidina 3-O-glucósido como por el agotamiento de la glutatión S-transferasa TT19. Presumieron que este nuevo mecanismo de microautofagia también medía el transporte de otros agregados de flavonoides a la vacuola.

Takahashi, Takeda, & Ohnishi, (1991) Utilizando cultivos en suspensión de células de *Centaurea cyanus* L., en los que la biosíntesis de antocianina es inducida por iluminación con luz blanca que contiene UV y en los que el nivel de pigmento se puede controlar, examinaron la sensibilidad de las células a la irradiación UV-B y UV-C y la formación de dímero de pirimidina como resultado de la exposición a la luz ultravioleta, con un especial referencia al nivel de acumulación de pigmento antociánico en las células. La sensibilidad de las células a UV-B o UV-C disminuyó a medida que aumentaba su contenido de antocianina. Además, el grado de formación de dímeros de pirimidina inducidos por la irradiación con luz UV-B o UV-C fue reducida en las células con antocianina acumulada. Tanto el grado de resistencia a los rayos UV la irradiación y la reducción de la extensión de la formación de dímeros como



resultado de la exposición a los rayos UV, se correlacionaron con los niveles de pigmento antociánico acumulado en las células. Los resultados muestran que la antocianina, una especie de flavonoide, desempeña un papel en la protección de las células contra enfermedades adversas, por efectos de la luz UV.

Hu et al., (2016) hicieron un estudio de la relación entre la quinasa y flavonoides en cuyos resultados revelan el importante papel de la proteína quinasa MdHXK1 en la fosforilación de MdbHLH3 TF para modular la acumulación de antocianinas en respuesta a la glucosa en la manzana. La glucosa se considera una molécula reguladora principal además de ser nutrientes metabólicos esenciales y componentes estructurales en plantas superiores. Como es bien sabido, la hexoquinasa1 (HXK1) es un sensor de glucosa que integra diversas señales para gobernar la expresión génica y crecimiento de las plantas en respuesta a señales ambientales. Anteriormente, se informa que el HXK1 nuclear forma un núcleo complejo de señalización de glucosa con el H<sup>+</sup> vacuolar -ATPasa B1 (VHAB1) y la partícula reguladora 19S de la subunidad del proteasoma (RPT5B), que influye en la transcripción de genes diana.

La actividad antioxidante de las antocianinas en frutos y sobre órganos biológicos ha sido documentada por varios investigadores (Víctor et al 2015; Ferrulo, et al. 2014) y se ha comprobado que esta propiedad es dependiente de la especie vegetal, la procedencia geográfica y el tiempo de la cosecha. Sgherri et al (2015) encontraron que en frutos maduros de duraznos expuestos a radiación ultravioleta, hubo acción antioxidante por pigmentos sintetizados en pos cosecha; de igual manera en frutos de mora se ha detectado alta actividad anti radicales libres por antocianinas (Martínez. 2015). En revisión hecha por Liobikas et al. (2016,) Se resumen los mecanismos propuestos de acciones directas o indirectas de antocianinas en las células cardiacas con el énfasis especial en los efectos farmacológicos recientemente descubiertos sobre las mitocondrias en la cardioprotección: reducción del citocromo citosólico C, prevención de la apoptosis y el mantenimiento de la transferencia de electrones entre el NADH deshidrogenasa y citocromo C, de soporte de la fosforilación oxidativa en las mitocondrias dañadas por isquemia.

La evaluación de la actividad antioxidante del extracto in vitro es una ayuda cada vez más relevante en las áreas de nutrición y tecnología de los alimentos. Por otra parte (Bi et al., 2014) cuantificaron compuestos fenólicos en los extractos de piel de manzana en presencia de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) para identificar qué compuesto fenólico contribuyó más a la captación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Los resultados mostraron que los compuestos fenólicos extraídos de cáscara de manzana 'Golden Delicious' tenían una fuerte capacidad de barrido de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Aplicación exógena de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aumentó la síntesis de compuestos fenólicos, especialmente antocianina, en cáscara de la manzana bajo la luz solar.

Moreno, et al (2006) realizaron un estudio con el objetivo de determinar el color y el contenido de antocianinas en colectas de chile guajillo de diferentes provincias de México, en el que encontraron que habían diferencias en los contenidos entre regiones pero no hallaron relación entre el color y el contenido



de antocianos. Masci et al., (2016) utilizaron dos procedimientos para optimizar la extracción de antocianinas en frutos de granada, empleando acetato de etilo como un disolvente, útil en la obtención de extractos enriquecidos en ácido elálgico y / o punicalaginas. Ensayos antioxidantes y antiproliferativos demostraron que la capacidad antioxidante se relaciona directamente con contenidos fenólicos (antocianinas).

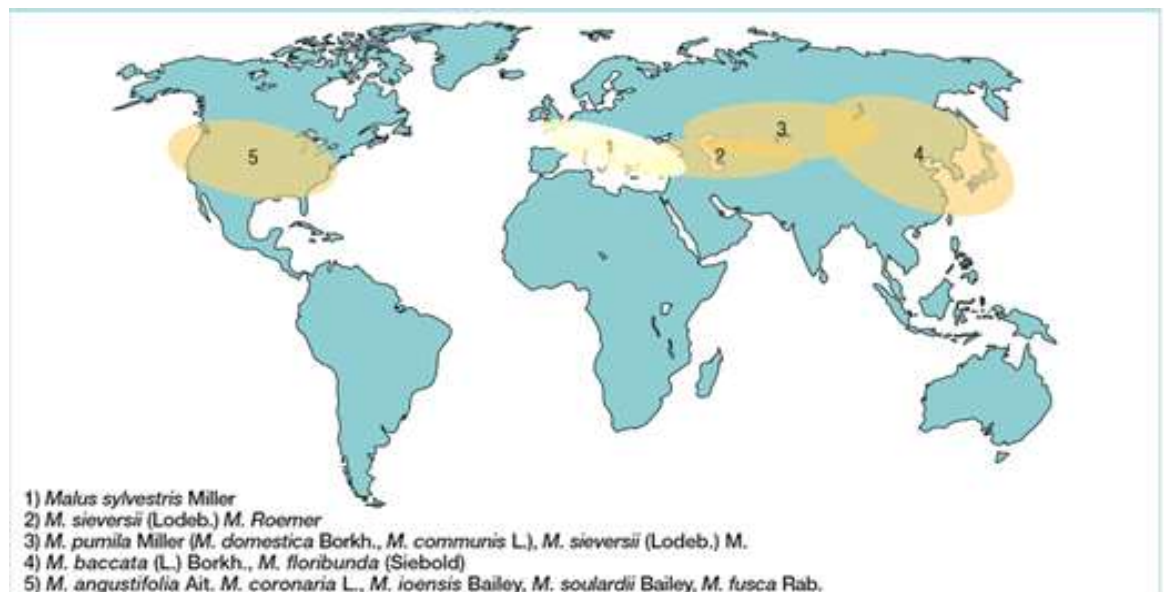
Hurtado & Pérez (2014), Cuantificaron antocianinas y Fenoles Totales a partir de la cáscara del fruto de Capulí (*Prunus serotina* spp *capuli* (Cav) Mc. Vaug Cav) utilizando un extracto crudo y un extracto rico en antocianinas monoméricas, para determinar capacidad antioxidante. Encontraron que el extracto rico en antocianinas monoméricas, mostro la mayor capacidad antioxidante.

## 2.2 Marco teórico

### 2.2.1 La manzana (*Malus domestica* borkh)

La manzana es la fruta más popular y la de mayor cultivo a nivel mundial seguida por el banano, las uvas y las naranjas. La producción mundial de manzana supera los 69.568.000 toneladas anuales con una superficie sembrada de aproximadamente 4.797.793 hectáreas (Sansavini & Ranalli 2012). A nivel continental las áreas de cultivo más influyentes son Asia, que contribuye con el 57% de la producción mundial, Europa con el 25% y el continente Americano con un 14% (Sansavini 2012).

Según, Agustí (2008), la Manzana es una especie rosácea de las pomáceas originaria del gran Cáucaso y Asia central; sin embargo Angelini (2008) se refiere a varios centros principales de origen (Figura 1).



**Figura 1.** Centros de origen de algunas de las principales especies pertenecientes a *Malus*. Fuente. Angelini 2000.





El manzano Es un árbol caducifolio que alcanza una altura entre 1,5 y 7 m (dependiendo del porta injerto) y un ancho de base de 1 a 4,5 m. La copa del árbol es globosa y el tronco bastante recto, con la corteza escamosa cubierta de lenticelas, presenta un sistema radicular extendido y relativamente profundo (Coque et al., 2012); Yemas Las yemas se forman en la axila de las hojas, extremo y base de los brotes, pueden ser de flor o de madera; las primeras son gruesas y globosas, originan flores y las de madera o vegetativas, más pequeñas, son cónicas, puntiagudas y dan lugar a los brotes (Chillo., 2019). Las yemas se forman en la axila de las hojas, extremo y base de los brotes, pueden ser de flor o de madera; las primeras son gruesas y globosas, originan flores y las de madera o vegetativas, más pequeñas, son cónicas, puntiagudas y dan lugar a los brotes (Coque., 2012); Las hojas salen en los brotes; son ovaladas, elípticas, lanceoladas, oblongas, lobuladas o aserradas de color verde claro en el envés y cubierto de pelos (Domínguez, 2008). La flor es de color blanco a rosa o carmín, se organizan en inflorescencias y es hermafrodita. De acuerdo con Cárdenas y Fischer (2013), el hipanto y el gineceo permanecen fusionados para formar un ovario ínfero el cual se desarrolla en un fruto carnosos. El fruto es un pomo, carnosos de forma más o menos redondeada, su zona central está dividida en cinco partes, una por carpelo. En esta zona central, se encuentran las semillas (Domínguez, 2008).

### 2.2.2 El cultivar “ANNA”

Es un híbrido obtenido en Israel en 1967, mediante cruce entre Golden Delicious y un manzano local del valle del Jordán “Adassia red” (Andersen



2019).

**Figura 2.** Árboles de manzana “Anna” cultivados en Soracá Boyacá Fuente: autor



Fue desarrollada por Efraín Slor, horticultor de Volcani, y que lleva el nombre de su hija; es una fruta del tipo Golden Delicious para cultivar en zonas donde las temperaturas invernales rara vez bajan hasta la congelación. La mayoría de las variedades de manzana necesitan el frío del invierno para desarrollarse, pero Anna madura a principios del verano en zonas templadas y crece bien en climas cálidos como Egipto, Indonesia, el sur de California y el sur de Texas (Saldivar 2017).

Esta variedad tiene un tamaño promedio de 150 g, 40% o más de color rojo dependiendo de condiciones ambientales, con estrías oscuras, presenta un fondo verdoso. Al madurar cuando tiene 20 lbs/p<sup>2</sup> de firmeza posee 12% de sólidos solubles, su forma es semi alargada. Tiene la tendencia a florear dos veces al año en zonas subtropicales y los árboles son poco vigorosos. Requiere 250 – 300 horas frío y se cosecha a los 120 días de plena floración (Trejo & Soto 1991; Garcés & Soto 2000; Chillo 2019).

### 2.2.3 La polinización

La mayoría de las manzanas no se auto polinizan y requieren polinización cruzada para una adecuada producción de frutos. Para que haya una polinización cruzada eficiente se requiere que los cultivares polinizantes florezcan en simultáneo con el cultivo principal. (Chillo 2019; Crocker et al., 2016). La polinización parcial frecuentemente resulta en frutos que contienen una o dos semillas. La mayoría de los frutos que tienen unas pocas semillas y también aquellos en los que se aborta el embrión se caerán antes de madurar. La floración de 'ANNA' y 'Dorset Golden' se sobrelapan. Por esto, se recomienda que ambas variedades se siembren juntas para obtener una buena polinización cruzada (Crocker et al., 2016)

Según Petri et al. (2012) Hay dos fases que caracterizan el ciclo anual de la manzana (*Malus domestica* Borkh): período hibernal (latencia) y el crecimiento de los brotes. La luz y la temperatura son el principal factor relacionado con latencia, las temperaturas específicamente bajas. La evolución de los estados fenológicos de manzana durante la fase vegetativa: inducción y diferenciación floral, brotación, plena floración, el desarrollo y la maduración de la fruta, y el rendimiento y la calidad de la producción, puede ser visualmente detectado y se ven afectados por las condiciones ambientales.

Los frutos de manzana de coloración roja además de su composición nutricional (Angelini 2008) son ricos en polifenoles, principalmente en la piel por antocianos que se sintetizan en vacuolas de células epidérmicas. Se determinó que la acumulación de antocianinas está mayormente correlacionada con la expresión y actividad de las enzimas, los factores ambientales como la temperatura y la luz, el estrés hídrico y heridas también han demostrado ser factores importantes para estimular la biosíntesis de antocianinas (Liu et al., 2013)

### 2.2.4 Cosecha



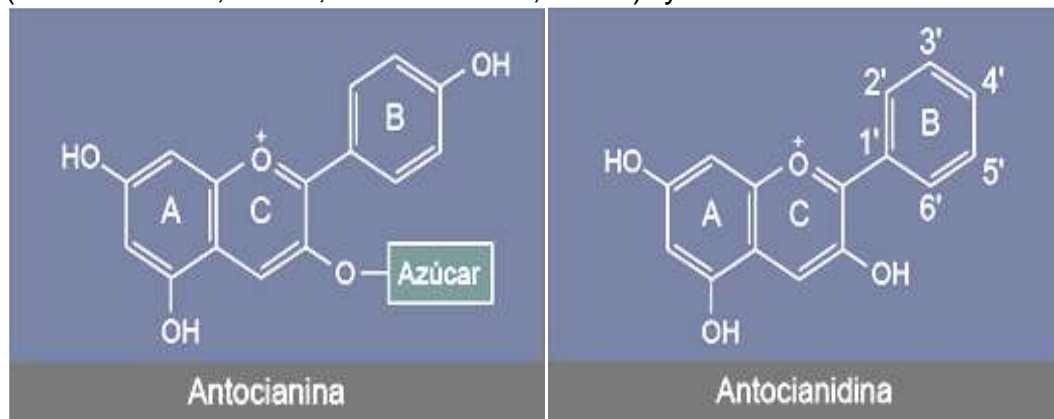
El momento de la cosecha es un momento fundamental en la cadena de producción, que básicamente caracteriza la calidad general y la vida útil de las manzanas. Si la fruta es cosechada inmadura, los defectos son evidentes, tales como: falta de aromas y sabor, tamaño insuficiente, bajos niveles de azúcar, acidez excesiva, mientras que si la fruta está demasiado madura, los defectos son exaltados, tales como: baja dureza de la pulpa, harinosa, mal manejo, almacenamiento limitado, aparición durante la refrigeración de conservación oscurecimiento y la putrefacción interna. Para determinar el momento óptimo de la cosecha, es posible utilizar índices objetivos como la dureza de la pulpa, el residuo seco refractométrico y el test de yodo (Di vaio 2014).



**Figura 3.** Propiedades químicas y organolépticas de los frutos maduros de manzana

### 2.2.5 Las antocianinas

Las antocianinas son pigmentos del grupo de flavonoides hidrosolubles, responsables del color rojo, azul y púrpura de muchas flores y frutas (Canuto et al., 2016). Estos metabolitos se encuentran entre los compuestos vegetales de mayor interés científico, por sus posibles implicaciones en la salud humana (Fredes et al., 2014; Masci et al., 2016) y en la industria de alimentos



**Figura 4.** Estructura química de las moléculas de antocianinas y antocianidinas.



(Kamiloglu et al., 2015). Representan a un grupo de pigmentos polifenólicos dentro de la familia de los flavonoides. Además de sus múltiples grupos fenilo, las antocianinas se caracterizan por poseer un azúcar típicamente conjugado con el grupo hidroxilo C3 en el anillo C (Malacarne et al., 2015) Existen casi exclusivamente en esta forma; (aglicona) sus similares no azucarados conocidos como antocianidinas (Figura 4) son poco estables y por lo tanto rara vez se encuentran en la naturaleza. Hasta ahora, más de 700 moléculas de antocianina estructuralmente diferentes han sido identificados, pero sólo seis representan el 90% de las que se encuentran en la naturaleza: cianidina (50%), delphinidina (12%), malvidina (12%), pelargonidina (12%), peonidina (7%), y petunidina (7%) que se conocen como glucósidos (Taylor, Wallace & Giusti 2014).

En la manzana, la coloración de la piel y las características fisicoquímicas, son factores importantes que determinan la calidad de los frutos; estos parámetros tienen un control de orden genético pero influenciado por condiciones ambientales en estación de crecimiento. La temperatura y la radiación solar por ejemplo, son factores importantes en la síntesis de antocianinas (Kim et al., 2015).

Los colores de las hojas, flores y frutos de los productos agrícolas son muy importantes por su valor comercial. Las antocianinas, que son pigmentos solubles en agua sintetizados en muchas plantas, son un tipo importante de compuestos flavonoides que contribuyen a la mayoría de los procesos de producción de los colores naranja, rojo, azul y púrpura. Las antocianinas desempeñan funciones extremadamente diversas en las plantas. Sirven como atrayentes de polinizadores y dispersores de semillas, y juegan un papel importante en las respuestas a las tensiones abióticas y bióticas (Gou et al., 2019). Las antocianinas también tienen un papel benéfico en la salud humana. Como antioxidantes potentes, son potencialmente protectores contra enfermedades cardiovasculares, ciertos tipos de cáncer y algunas otras enfermedades crónicas (Hou DX. (2003) & Butelli et al., 2008).

Un conocimiento exhaustivo de la biosíntesis de las antocianinas es importante para el desarrollo de alimentos ricos en antocianinas, a fin de satisfacer la creciente demanda de componentes que promuevan la salud en nuestra dieta diaria. Las vías biosintéticas de las antocianinas han sido bien caracterizadas y los genes correspondientes han sido aislados de varias especies de plantas. En la planta modelo *Arabidopsis thaliana*, la biosíntesis, regulación y transporte de antocianinas, específicamente la mayoría de los genes estructurales y reguladores involucrados en la síntesis de antocianinas, han sido identificados y caracterizados funcionalmente en las últimas dos décadas (Talos et al., 2006) Estos estudios han hecho importantes contribuciones a la comprensión integral de la biosíntesis de las antocianinas y han revelado la acumulación y los perfiles metabólicos de las antocianinas en la *Arabidopsis*. Las antocianinas se derivan de las ramas de la vía flavonoide, que comienza con la fenilalanina a través de la vía fenilpropanoide general. La vía fenilpropanoide contiene tres genes principales: PAL (fenilalanina amoníoliasa), C4H (cinamato-4-hidroxilasa) y 4CL (4-coumarato: CoA ligasa). En la vía biosintética del flavonoide se pueden distinguir dos tipos de genes estructurales



correlacionados: los genes biosintéticos tempranos (EBG) y los genes biosintéticos tardíos (LBG) Gould et al., 2009) Los EBG, que incluyen CHS (chalcona sintasa), CHI (chalcona isomerasa), F3H (flavonoide 3-hidroxilasa), F3'H (flavonoide 3'-hidroxilasa), y FLS (flavonol sintasa), conducen a la producción de flavonoles y otros compuestos flavonoides, mientras que los LBG, que incluyen DFR (dihidroflavonol-4-reductasa), ANS (antocianidina sintasa), y flavonoide 3-O-glucosiltransferasa), conducen a la producción de antocianinas (Gould et al., 209)

Las antocianinas están presentes en diferentes componentes de la planta, y su contenido varía entre dos o más frutas del mismo tipo. Las diferencias en los entornos de crecimiento, factores genéticos, muestras, cultivares, la preparación y los métodos de extracción contribuyen a la variabilidad de antocianinas, lo que puede hacer que sea difícil de determinar con precisión su contenido y el consumo humano. Estos compuestos solubles en agua son producidos por las plantas para ayudar a proteger contra el estrés oxidativo, la luz ultravioleta, y las amenazas ambientales adicionales. (Taylor, Wallace & Giusti 2014)

### **2.2.6 Las antocianinas y las respuestas al estrés.**

Las antocianinas foliares están más comúnmente como soluciones vacuolares en epidermis y / o mesófilo de las células, aunque en ciertas briofitas estos pigmentos rojos se unen a la pared celular epidérmica. Con independencia de su localización celular, sin embargo, la biosíntesis de antocianinas en muchas hojas generalmente ocurre en respuesta a uno o más factores de estrés ambientales (Zoratti 2014). Estos incluyen: luz fuerte, la radiación UV-B, temperaturas extremas, sequías, ozono, nitrógeno y ataques bacterianos e infecciones fúngicas, heridas, herbívoros, herbicidas, y varios contaminantes. Debido a su asociación con estos factores de estrés biótico y abiótico, las antocianinas son generalmente consideradas como un síntoma de estrés y/o parte de un mecanismo para mitigar los efectos del estrés (Gould, & Winefield 2009; Liu et al., 2013). Gran parte del trabajo fisiológico realizado en los últimos años ha intentado desentrañar las funciones fitoprotectoras de antocianinas que mejorarían tolerancia a estos factores de estrés.

Desde hace tiempo se ha sugerido que las antocianinas podrían proteger las células fotosintéticas de los efectos adversos de la luz fuerte; no se logró la primera confirmación experimental de esta hipótesis, hasta la década de 1990, a raíz de la llegada de la amplitud modulada de pulso en campo (PAM) o fluorómetro de clorofila, que permite comparaciones no invasivas de la eficiencias cuánticas de la fotosíntesis del rojo; frente a las hojas verdes. Aunque la fotosíntesis es impulsada por la luz, los cuantos en exceso de los requisitos para las reacciones de luz, pueden afectar adversamente los componentes del sistema fotosintético (pigmentos antena, centros de reacción, proteínas accesorias y electrones de transporte), y puede conducir a procesos destructivos y reparación secundaria en la membrana tilacoidal (Gould, Chris & Winefield 2009).



Además de sus efectos beneficiosos bien documentados en los procesos fisiológicos en las plantas, también se ha propuesto que las antocianinas desempeñan una función importante en interacciones planta / animal. Estos incluyen la atracción de los polinizadores y frugívoros, así como la repelencia de los herbívoros y parásitos (Koes et al., 2005; Bogs et al., 2007). Las propiedades ópticas de las antocianinas pueden servir como señales visuales a los herbívoros potenciales, lo que indica una fuerte inversión metabólica en tóxicos o productos químicos desagradables. Las antocianinas también se han implicado en el camuflaje de partes de la planta en contra y, debilitamiento de insectos, e imitación de estructuras defensivas. Estas hipótesis tienen en los últimos años un fuerte apoyo teórico con aumento de la evidencia experimental. Se hace hincapié en que tanto las funciones defensivas como las funciones fisiológicas de las antocianinas pueden operar en plantas simultáneamente.

Las antocianidinas, que se consideran compuestos flavonoides, son pigmentos naturales solubles en agua que se encuentran ampliamente en los pétalos y frutos de las plantas. Las antocianinas producen tonalidades rojas, azules y púrpuras según el valor de pH de la vacuola (Goud et al., 2009). Por lo general, es reconocido que la acumulación de antocianinas en las frutas va acompañada de la maduración de las mismas y está regulada tanto por señales de desarrollo como ambientales. Se han identificado y clonado los genes estructurales implicados en la biosíntesis antociánica, que pertenece a la clásica vía de síntesis de flavonoides, en los frutos de muchas especies vegetales, como tomates, cerezas, fresas y manzanas. Además, estudios previos han demostrado que la biosíntesis de antocianina está regulada principalmente por el factor de transcripción del complejo MYB-bHLH-WD40 tanto a nivel transcripcional como postraducciona [9-11]. Sin embargo, el vínculo entre las señales de desarrollo y ambientales y estos factores de transcripción sigue siendo desconocido (Li et al., 2019).

Las antocianinas son un grupo de pigmentos de color rojo, hidrosolubles, ampliamente distribuidos en el reino vegetal (Fennema, 1993). Químicamente las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace  $\beta$ -glucosídico. La estructura química básica de estas agliconas es el ión flavilio (Badui, 2006), también llamado 2-fenilbenzopirilio (Wong, 1995), que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B); el flavilio normalmente funciona como un catión (Badui, 2006). Las agliconas libres raramente existen en los alimentos, excepto posiblemente como componentes traza de las reacciones de degradación (Fennema, 1993). De todas las antocianidinas que actualmente se conocen (aproximadamente 20), las más importantes son la pelargonidina, delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez; la combinación de éstas con los diferentes azúcares genera aproximadamente 150 antocianinas

Las antocianinas son metabolitos secundarios que no solo juegan un papel importante en la pigmentación, sino que también tienen funciones antioxidantes y antitumorales, protegen contra la coronaria enfermedad cardíaca y ayuda a defenderse contra los patógenos y la radiación ultravioleta Gould et al., 2009.



La acumulación y distribución de antocianinas se rige por redes metabólicas que están reguladas por condiciones genéticas y ambientales; también están fuertemente correlacionados con la expresión de genes estructurales y reguladores. En plantas modelo como *Arabidopsis thaliana*, los genes estructurales en la vía biosintética de antocianinas se dividen en dos grupos designados como "temprano o tarde". Los genes biosintéticos "tempranos" parecen estar regulados y codificados de forma coordinada enzimas que funcionan en los pasos iniciales de la vía biosintética, como CHS y CHI. Los genes biosintéticos "tardíos" se expresan durante las etapas posteriores de la biosíntesis vía, como DFR, ANS y otros, (Wei et al. 2015). Durante la floración y la maduración de la fruta, estos genes exhiben diferentes patrones de expresión en diferentes especies. La regulación transcripcional de los genes estructurales juega un papel importante en la vía biosintética de antocianinas. Los reguladores transcripcionales para la biosíntesis de antocianinas incluyen proteínas MYB, proteínas bHLH (helixloop-helix básicas) y proteínas WD40. Las combinaciones e interacciones entre los factores de transcripción MYB, bHLH y WD40 median la regulación de la vía biosintética de antocianinas. Los genes estructurales y los factores de transcripción que son involucrados en la vía biosintética de antocianinas se han identificado a través de bioquímicos y análisis genéticos en varios árboles frutales, como fresa, manzana y uva, (Wei et al. 2015).

Por lo tanto, un conocimiento exhaustivo de la biosíntesis de las antocianinas es importante para el desarrollo de alimentos ricos en antocianinas a fin de satisfacer la creciente demanda de componentes que promuevan la salud en nuestra dieta diaria.

### **2.2.7 Protección contra la Radiación Ultravioleta**

Además de su capacidad para proteger a los tejidos de las plantas del exceso de radiación visible, las antocianinas también han sido implicadas en la protección contra los rayos ultravioleta (Taiz & Blac 2006). La radiación UV se clasifica como UV-A (320-390 nm), UV-B (280-320 nm) y UV-C (<280 nm). El ozono estratosférico (O<sub>3</sub>) absorbe la mayor parte de la radiación UV-C y parte de la radiación UV-B. La radiación UV-A, sin embargo, no es filtrada por O<sub>3</sub> estratosférico. Con un máximo de absorción ( $\lambda_{max}$ ) a 260 nm, el ADN es particularmente vulnerable a efectos adversos de los rayos UV de alta energía (Gould, Chris & Winefield 2009). Para fortificarse contra los efectos nocivos de la radiación UV, las plantas tienen mecanismos múltiples desarrollados para disminuir la penetración de los rayos UV en los tejidos vegetales, incluyendo la síntesis de compuestos fenólicos de absorción de UV. La biosíntesis de antocianinas y otros flavonoides se sabe que es activado en muchas especies de plantas por la exposición UV (Zhang, Gou, Yang, & Liu, 2015).

### **2.2.8 Respuestas contra la radiación UV-B**



Las características de absorción de UV de los flavonoides se han considerado durante mucho tiempo como evidencia del papel de los flavonoides en la protección UV. Los estudios en una amplia gama de especies, como *Ligustrum vulgare*, *Vitis vinifera*, petunia y *Arabidopsis* han proporcionado nuevas pruebas de que la luz UV induce la síntesis de compuestos de flavonol (Ryan et 2010; Agati et al., 2011; Kusano et al., 2011). La presencia del grupo OH en la posición 3 del esqueleto flavonoide es la principal característica estructural responsable de quelar los iones metálicos como hierro, cobre, zinc, aluminio y, por lo tanto, inhibir la formación de radicales libres y reducir. Una vez que se formó ROS, se sugirió que los flavonoles podrían desempeñar papeles aún no caracterizados en la respuesta al estrés UV. Además, las especies de gramíneas: *Deschampsiaantarctica*, *Deschampsiaborealis* y *Calamagrostis epigeios* que crecen en regiones con niveles elevados de radiación solar UV-B tienen altos niveles constitutivos de flavonoides como las flavonas orientina y luteolina, que protegen a las plantas contra esta condición de estrés (Van De Staaij et al., 2002).

De manera similar, las plantas de maíz que crecen a gran altura acumulan flavonas C- glucosilo en las hojas, maysin y su precursor biosintético, ramnosilisoorientina, flavonas que se encuentran comúnmente en las sedas, como un mecanismo que previene el daño causado por la alta exposición a los rayos UV-B (Zhang et al., 2003 ; Casati y Walbot, 2005 ). Los genes *FLS* están regulados por la radiación UV-B tanto en variedades locales de gran altitud como en endogámicas de maíz de baja altitud. Niveles de transcripción más altos están presentes en plantas de gran altitud donde hay altos niveles de radiación UV-B que en bajas altitudes. En consecuencia, considerando el papel protector de los flavonoles a la radiación UV-B, hipotetizamos que los altos niveles de transcripción de los genes *ZmFLS* también pueden contribuir a la adaptación a esta condición de estrés con flujos UV-B más altos (Falcone Ferreyra et al., 2012 ).

El interés por la familia de los flavonoides ha aumentado en los últimos años después de la observación de que estos compuestos actúan como protectores solares contra la radiación UV-B potencialmente dañina. Las antocianinas foliares generalmente se han incluido con otros flavonoides en esta función protectora de UV-B. De acuerdo con esta hipótesis, las antocianinas, particularmente cuando están aciladas, se absorben fuertemente en la región UV, son inducidas o reguladas en los tejidos vegetales en respuesta a la irradiación UV, y mitigan el daño del ADN POR rayos UV-B. Además, ciertos mutantes de *Arabidopsis* deficientes en antocianinas son hipersensibles a los rayos UV-B, y las variedades *Coleus* de hojas rojas tienen mayores eficiencias fotosintéticas después de la irradiación UV que las variedades de hojas verdes. Las antocianinas en el arroz morado impidieron la fotoactivación de la fotoliasa al absorber parte de la luz azul / UV-A que incide en las hojas. Por lo tanto, cualquier ganancia a corto plazo de la absorción de UV-B por las antocianinas se vería determinada por su propiedad para absorber la luz visible y, por lo tanto, limitar la velocidad de reparación del ADN (Gould, 2004).



La investigación contemporánea, por el contrario, ha comenzado a mostrar que los pigmentos pueden influir significativamente en la forma en que una hoja responde al estrés ambiental. Las antocianinas han sido implicadas en la tolerancia a los estresores tan diversos como la sequía, UV-B y metales pesados, así como la resistencia a herbívoros y patógenos. Al absorber cuantos de alta energía, Las vacuolas de células antociánicas protegen los cloroplastos de los efectos fotoinhibitorios y fotooxidativos de la luz intensa, y previenen el catabolismo de los compuestos de defensa fotolabiles. Las antocianinas también mitigan el daño fotooxidativo en las hojas al eliminar de manera eficiente los radicales libres y las especies reactivas de oxígeno. Lejos de ser un subproducto inútil de la vía flavonoide, estos pigmentos rojos pueden en algunos casos ser críticos para la supervivencia de la planta (Zoratti et al., 2014).

## **2.2.9 Efecto de la calidad de la luz sobre la biosíntesis de flavonoides en frutas**

### **2.2.9.1 Longitudes de onda de luz visibles**

La acumulación de flavonoides de la fruta, también es sensible a la calidad del espectro de luz recibido por la planta. Parece que las longitudes de onda más cortas, en el rango de luz azul y UV, muestran el efecto más destacado en la acumulación de flavonoides en las frutas, a menudo al aumentar la expresión de los genes de la ruta de los flavonoides. En las fresas inmaduras, la luz azul aumentó significativamente la biosíntesis de antocianinas y la expresión de *FaCHS* después de cuatro días de tratamiento (Kadomura-Ishikawa et al., 2013). En las bayas de uva tratadas con luz de diodo emisor de luz (LED), las concentraciones de antocianinas fueron más altas en la piel tratada con luz azul, seguida del tratamiento con luz roja (Kondo et al., 2014). En el mismo estudio, también se detectaron diferencias en el perfil de antocianinas y, especialmente, los glucósidos de malvidina aumentaron hacia la cosecha en la piel tratada con LED azul y rojo, a diferencia de los controles no tratados. Sin embargo, en este caso, los niveles de transcripción de *VIMYBA1-2*, *VIMYBA2* y *VvUFGT* no coincidieron necesariamente con las concentraciones de antocianina. Estos hallazgos han aumentado el interés hacia la aplicación de luces led en huertos frutales para mejorar la calidad de la fruta en la madurez en términos de valor nutricional y contenido de compuestos bioactivos (Zoratti et al., 2014).

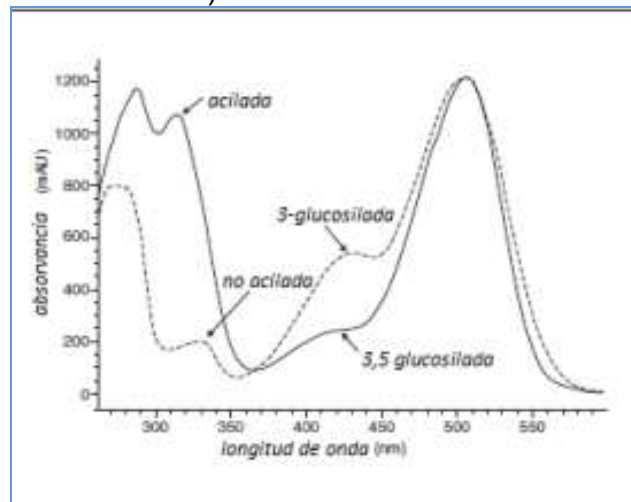
La relevancia de la percepción de la luz azul a través de las fototropinas en la biosíntesis de flavonoides se demostró recientemente a nivel molecular en la fresa, cuando se demostró que la expresión de fototropina 2, *FaPHOT2*, se eleva durante el desarrollo de las bayas y corresponde al aumento en el contenido de antocianinas (Kadomura-Ishikawa et al., 2013). Además, en el mismo estudio, la eliminación de *FaPHOT2* resultó en una disminución del contenido de antocianinas, mientras que la sobreexpresión aumentó la acumulación de antocianinas en la fruta de fresa. Además, la sobreexpresión

del criptocromo con detección de luz azul en el tomate (Giliberto et al., 2005) resultó en la acumulación de antocianinas en los frutos de tomate.

Curiosamente, se ha demostrado que la acumulación de compuestos flavonoides en respuesta a la luz continúa en las frutas poscosecha. El contenido total de antocianinas en las frutas de fresa aumentó significativamente después de cuatro días de tratamiento con luz azul ( $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) a  $5^\circ \text{C}$  en comparación con las frutas de control (Xu et al., 2014). Mientras tanto, el tratamiento también aumentó las actividades de las enzimas de la ruta general de fenilpropanoides y flavonoides, incluida la glucosa-6 fosfatasa (G6PC) fenilalanina amonialiasa (PAL), cinamato-4-hidroxilasa (C4H), 4-cumarato: coenzima A ligasa (4CL), CHS, F3H, DFR, ANS y UFGT. Por lo tanto, una fuente de luz azul suplementaria podría aumentar el contenido de antocianinas en las fresas también durante el almacenamiento de la fruta. Estos resultados son importantes ya que indican que la respuesta fisiológica al estímulo de luz se encuentra en la fruta.

### 2.2.10 Análisis de antocianinas por espectrofotometría UV-Vis.

Debido a su estructura, las antocianinas presentan máximos de absorción tanto en la región visible como en la ultravioleta, lo que resulta muy importante para la caracterización estructural de dichos compuestos. Sus espectros de absorción se caracterizan por tener dos bandas separadas en la región visible entre 465 y 550 nm y otra más pequeña en el UV alrededor de 275nm (Figura 5). Es así como se pueden identificar las antocianinas por su absorción en la región visible (Santacruz 2011)



**Figura 5.** Espectros UV-Vis de las antocianinas aciladas y 3,5-glicosiladas (línea continua); no aciladas y 3-glicosiladas (línea discontinua) Fuente: (Santa Cruz 2011).

La glicosilación conlleva a un desplazamiento hipsocrómico de los máximos de absorción en el visible. Así por ejemplo, entre ( $\lambda_{\text{max}}$  520nm) de la pelargonidina y de la pelargonidina-3-glucósido (505nm), ocurre un desplazamiento de  $\Delta \lambda$  de 15/nm; entre cianidina ( $\lambda_{\text{max}}$  535nm) y cianidina-3-glucósido ( $\lambda_{\text{max}}$  523nm) un  $\Delta \lambda$  de 12/nm, entre delphinidina ( $\lambda_{\text{max}}$  544) y





delfinidina-3-glucósido ( $\lambda_{\text{max}}$ . 534nm) un  $\Delta \lambda$  de 10/nm (Harborne & Williams 1995).

Los derivados acilados no son diferentes con respecto a los correspondientes no acilados en la zona del visible, sin embargo, en la región del ultravioleta suelen presentar un máximo adicional en el intervalo de  $\lambda$  310-335 nm, correspondiente a la absorción del grupo acilo; la esterificación con ácido p-cumárico aumenta la absorción en torno a 308-313 nm y con ácido caféico en  $\lambda$ 326-329 nm. Este hombro no se presenta cuando el ácido sustituyente es el ácido acético (Wrolstad & Heatherbell 1974).

### 2.2.11 Radiación ultravioleta

Las radiaciones solares UV integran una pequeña parte del espectro solar, pero cuando inciden sobre la superficie terrestre pueden ocasionar daños sustanciales en los tejidos vivos y en los materiales. Las radiaciones solares UV-B y UV-A que se reciben en la Tierra son fuertemente afectadas por la concentración del ozono estratosférico y por las condiciones climáticas y ambientales particulares de cada región del planeta. La denominada radiación solar UV-C, que posee las longitudes de onda más cortas y de mayor contenido energético, es absorbida completamente por la atmósfera por el gas ozono, por debajo de longitudes de onda igual a 280 nm. El ozono también bloquea gran parte de la radiación UV-B (280-315 nm) y en menor medida la radiación UV-A (315-385 nm) (Gilmore 2010).

Las radiaciones solares UV en un determinado lugar geográfico dependen de la distancia entre la Tierra y el Sol, la que varía a lo largo del año, y el ángulo cenital. Además del ozono, se afectan por los aerosoles presentes en la atmósfera. La concentración del ozono en la atmósfera varía con la latitud, este gas se forma mayoritariamente en la zona ecuatorial y aumenta su concentración hacia los polos.

Es ampliamente conocido que se ha verificado una disminución de la cantidad de ozono estratosférico debido a las reacciones químicas provocados por los gases clorofluorocarbonos. Dicho adelgazamiento de la capa de ozono, ha provocado un aumento en los valores de las radiaciones solares UV incidentes sobre la Tierra y resulta especialmente preocupante el aumento de las radiaciones UV-B, que producen los mayores daños en los seres vivos (Zoratti et al., 2014; Gilmore 2010).

Los niveles de radiación UV sobre la superficie de la tierra están influenciados por muchos factores, entre los que se cuentan:

- Elevación del sol: a mayor elevación del sol mayor nivel de radiación UV. Estos niveles de radiación dependerán del período del año y del día. Los niveles de radiación toman su valor máximo en el mediodía de los días de verano, para países fuera del trópico. Cerca de un 60% de la radiación, se recibe entre las 10 am a las 2 pm del día (Ballén & Mogollón 2007).
- Latitud: entre más cerca se esté de la región ecuatorial, mayor será en nivel de radiación UV.
- Nubosidad: en general, los niveles de radiación UV disminuye con la presencia de nubes en el cielo, aunque los niveles de UV pueden ser igualmente altos en presencia de nubosidad. Cerca de un 90% de



la radiación incidente sobre una nube puede atravesarla (Ballén & Mogollón 2007).

- Ozono: presente en la atmósfera absorbe buena parte de la radiación incidente. Los niveles de ozono dependen de la época del año y de la hora del día.
- Reflexión: la radiación UV puede reflejarse o dispersarse en varias superficies, por ejemplo cerca de un 80% de la radiación incidente en la nieve se refleja, mientras que un 25% de la radiación incidente sobre la arena logra reflejarse. (Ballén & Mogollón 2007).
- Altitud sobre el nivel del mar: los datos de la radiación UV revelan un aumento entre un 4 y un 10% por kilómetro sobre el nivel del mar obteniéndose un promedio de 5,6% de incremento de la RUV por kilómetro de altitud (Rivas et al., 2004).

### **2.2.12 Índice UV (IUV)**

El índice UV se introdujo en Canadá en 1992 en respuesta a la creciente preocupación por el posible aumento de la radiación ultravioleta (UV) debida al agotamiento del ozono. La Organización Meteorológica Mundial y la Organización Mundial de la Salud adoptaron el índice como indicador estándar de los niveles de radiación ultravioleta en los Estados Unidos. Los valores más altos del Índice UV del mundo ocurren en sitios de gran altitud en los trópicos (por ejemplo, valores de alrededor de 20 han sido observadas en el observatorio Mauna Loa, Hawái 21, 22), el Índice UV ha superado los 25 en los últimos años. El altiplano del Perú llega a 23. (Fioletov, & Fergusson 2010).

El índice UV solar (IUV) mundial es una medida de la intensidad de la radiación UV solar en la superficie terrestre (WHO, 2002). El índice se expresa con un valor superior a cero y cuanto más alto mayor es la probabilidad de lesiones cutáneas y oculares. El IUV se puede determinar mediante mediciones o cálculos basados en modelos. Existen dos posibles enfoques basados en mediciones: el primero consiste en utilizar un radiómetro y calcular el IUV con una fórmula, el segundo consiste en utilizar un detector de banda ancha calibrado y programado para proporcionar el IUV directamente.

La formulación del IUV mundial se basa en el espectro de acción de referencia de la Comisión Internacional sobre Iluminación (CIE) para el eritema inducido por la radiación UV en la piel humana, dicho índice es una medida de la radiación UV aplicable y definida para una superficie horizontal

El valor del IUV varía a lo largo del día, al hablar del índice de un día se hace especial señalamiento sobre la intensidad máxima del RUV en el día determinado, que se produce durante el período de cuatro horas en torno al medio día solar. El índice UV (IUV) es usado como un indicador que asocia la intensidad de la radiación solar ultravioleta (UV-B) incidente sobre la superficie de la tierra, con posibles daños en la piel humana. Este indicador alcanza los niveles más altos alrededor del mediodía y cuanto más alto, mayor es la probabilidad de lesiones cutáneas y oculares (Benavides 2010.)



Los índices UV indican la intensidad de la radiación UV-B en una escala del 1 al 11+, encontrándose valores particulares entre 18 a 20, generados especialmente en los trópicos, a grandes altitudes (Benavides 2010)

**Tabla 1. Categoría de exposición a la radiación ultravioleta**

Categoría de exposición	Intervalo de valores del IUV
Baja	$\leq 2$
Moderada	3 A 5
Alta	6 A 7
Muy alta	8 A 9
Extremadamente alta	11+

Fuente: (Benavides 2010)

### 2.2.13 Luz ultravioleta en altitud

Los datos de la radiación UV revelan un aumento entre un 4 y un 10% por kilómetro sobre el nivel del mar obteniéndose un promedio de 5,6% de incremento de la RUV por kilómetro de altitud (Rivas et al., 2004).

La altitud tiene un efecto sobre el contenido de metabolitos secundarios en plantas superiores. Además de incurrir en muchas diferencias climáticas, la altitud influye en la calidad de la radiación. Especialmente, la radiación UV-B es alta en los sitios alpinos en comparación con los hábitats más bajos (Barnes, Flint & Caldwell 1987). La radiación solar más alta en altitudes más altas a menudo se ha implicado como que tiene un impacto en los perfiles de metabolitos secundarios. Por ejemplo, se ha demostrado un aumento en los compuestos fenólicos en altitud como respuesta al aumento de la radiación UV. Algunos estudios han demostrado que las plantas alpinas de líneas de madera están generalmente adaptadas a los rayos UV-B, pero que, por otro lado, las plantas alpinas de línea de madera de las latitudes del norte pueden estar menos protegidas contra el aumento de la radiación UV-B que las plantas de más latitudes del sur y elevaciones más altas. (Jaakola & Hohtola 2010; Turunen & Latola 2005).

### 2.2.14 Radiación uv en frutas

La radiación UV solar que llega a la superficie terrestre está compuesta por UV-A (320-400 nm) y parte de UV-B (280-320 nm), mientras que la mayor parte de la radiación es UV-C (<280 nm) que es absorbida por la capa de ozono. En las últimas décadas, el agotamiento de la capa de ozono ha aumentado el nivel de radiación solar UV-B que llega a la tierra y ahora aproximadamente el 0,5% del total de los cuantos de radiación solar es UV-B (Zorati et al., 2014). Aunque los rayos UV-B representan sólo una pequeña fracción del espectro solar total, tienen amplios efectos fotobiológicos en las plantas que inducen cambios en la



fotosíntesis, la división celular y otros procesos vitales que afectan al crecimiento y desarrollo de las plantas (Jansen et al., 1998; Mpoloka, 2008).

Se sabe que el estrés causado por la luz UV-B aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) que dañan el ADN, las proteínas y los aparatos fotosintéticos de las plantas, pero estos efectos dependen de la dosis y el fenotipo (Smith et al., 2000). Algunos flavonoides, especialmente flavones, son reportados como altamente efectivos para la eliminación de ROS, así como para la absorción selectiva de la radiación UV-B (Falcone Ferreyra et al., 2012). Por tal razón, no es sorprendente que la producción en las plantas esté fuertemente inducida por la luz y las longitudes de onda UV-B.

Muchas flores y frutas producen flavonoles, flavones, y antocianinas como respuesta al exceso de luz UV. Sin embargo, los mecanismos involucrados en la introducción de estos metabolitos necesitan ser discutidos sobre la resistencia y aclimatación de las plantas. Los efectos de la luz ultravioleta en las plantas se han estudiado activamente desde finales de los años 70, cuando se descubrió el agotamiento de la capa de ozono en las regiones polares (Farman et al., 1985), aunque el futuro del clima y la radiación ultravioleta de la Tierra es incierto (Andrady et al., 2010), lo que es relevante son los efectos especialmente para la agricultura, ya que afectaría el rendimiento y la calidad de las plantas de cultivo, incluidos los frutos. Además de los efectos de la luz ultravioleta en condiciones de crecimiento natural, se han realizado tratamientos poscosecha con luz ultravioleta para mejorar la calidad del fruto. La mayoría de estos estudios se han realizado con radiación UV-C, que es más energética y puede disminuir rápidamente la incidencia de patógenos en las

Frutas. La radiación UV-B se ha aplicado después de la cosecha con el propósito especial de aumentar los contenidos de los metabolitos secundarios de la salud. (Falcón et al., 2012).

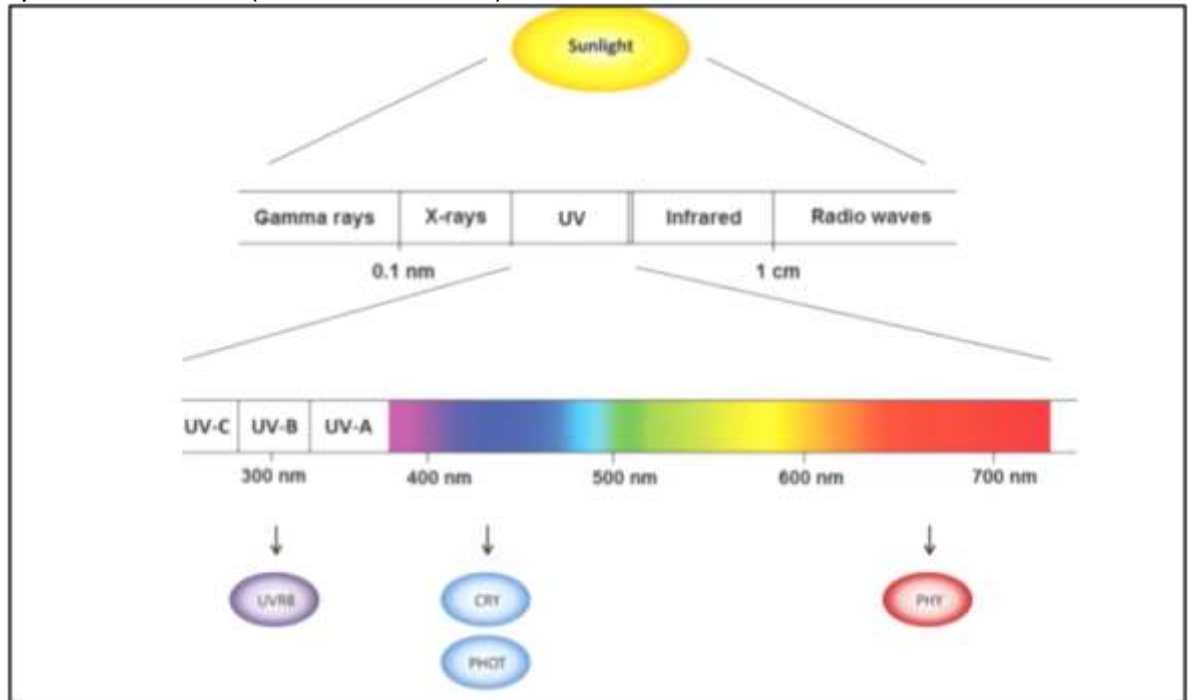
#### **2.2.14 Propiedades de la luz y la radiación solar.**

La irradiación solar que alcanza la superficie de la tierra cambia durante el día y a lo largo del año. Está en su punto más alto alrededor del mediodía, y muestra un pico más alto entre el solsticio de verano y los equinoccios, que coincide con el período de maduración de la fruta de la mayoría de las especies de plantas. El fotoperíodo no es el mismo en todo el mundo, ya que la duración del día varía con la latitud. En las zonas del norte, por encima de 66 ° N de latitud, la latitud de Murmansk-Rusia, Rovaniemi-Finlandia y Selawik Lake-Alaska, el sol permanece continuamente sobre el horizonte en verano, mientras que en latitudes más bajas, por ejemplo 45 ° N, Latitud de Milán-Italia, Ottawa-Canadá y Queenstown-Nueva Zelanda, el sol brilla 16 h en los días más largos del año (Zoratti et al., 2014).

El espectro electromagnético de la radiación solar se extiende desde rayos gamma y rayos X en un extremo hasta ondas de radio en el otro (Figura 6). La radiación biológicamente activa consiste en el espectro de aproximadamente 300 a 800 nm, incluida la luz UV (por debajo de 400 nm). El espectro de luz visible se encuentra en el rango entre 400 y 710 nm y se subdivide en longitudes de onda azul (400–495 nm), verde (495–570 nm), amarillo (570–590 nm) y rojo (590–710 nm). En el extremo del espectro visible, hay luz muy roja



(710–750 nm), seguida de la radiación infrarroja. El espectro cambia diariamente en términos de intensidad de radiación, mientras que la calidad de la luz es más estable. El espectro de luz visible medido estaba compuesto por 17% de azul, 44% de verde, 30% de rojo y 9% de luz roja lejana. Esta información es consistente con los informes anteriores sobre la calidad de los espectros solares (Robertson, 1966).



**Figura 6.** El espectro de radiación solar que llega desde los rayos gamma a las ondas de radio con una visión más cercana de las longitudes de onda visibles y los fotorreceptores de las plantas que absorben regiones específicas de longitud de onda . CRY, criptocromos; Phy, fitocromos; FHOT, fototropinas; UV, ultravioleta; UVR8, fotorreceptor UV-B. FUENTE: Zoratti et al., 2014.

Sin embargo, la calidad del espectro diario puede variar con la latitud. En el Ártico (latitud 69 ° N), se registró un aumento de la cantidad relativa de componentes de luz azul y roja lejana durante las "horas nocturnas" en el solsticio de verano, mientras que la proporción relativa de luz roja disminuyó. En el hemisferio sur, por ejemplo, Nueva Zelanda (latitud 45 ° S) recibe un 40% más de radiación UV en comparación con latitudes similares en el hemisferio norte (y en el sur Chile (en latitud 39 ° S) y Australia (latitud 38 ° S) la radiación UV recibida puede ser aún mayor (Zoratti et al., 2014).

### 2.2.15 Percepción de la luz

La capacidad de percibir y transducir la señal de luz es importante para un crecimiento y desarrollo óptimos de las plantas sésiles. Las plantas dependen de la luz solar como fuente de energía y pueden detectar los diferentes aspectos de la luz en su entorno de crecimiento, incluida la intensidad de la luz, la dirección, las longitudes de onda específicas y el fotoperíodo. Las plantas



emplean una matriz compleja de fotorreceptores para coordinar su respuesta al entorno de luz ambiental (por ejemplo, Wagner et al., 2005).

Además de las clorofilas y los carotenoides en los complejos de captación de luz que participan en la fotosíntesis, las plantas superiores utilizan múltiples fotorreceptores sensoriales para percibir con precisión las condiciones de luz que van desde UV-B hasta longitudes de onda de color rojo lejano (Möglich et al., 2010 ; Rizzini et al., 2011) El principal de ellos es la superfamilia de fitocromos, que incluye fotorreceptores que absorben luz roja / roja lejana (PHYA, PHYB, PHYC, PHYD, PHYE), así como criptocromos (CRY1, CRY2, CRY3) y fototropinas (PHOT1, PHOT2) que detectan UV-A / luz azul y fotorreceptor UV-B UV RESISTENCE LOCUS8 (UVR8) que se ha identificado recientemente. Tras la absorción de la luz, estos fotorreceptores activan varias cascadas de transducción de señales para regular las respuestas dependientes de la luz y la expresión de genes relacionados en las plantas. (Zoratti et al., 2014).

Para la detección y señalización de la luz, los fitocromos consisten en un cromóforo de bilina unido al resto de la proteína. En plantas con flores, LONG HYPOCOTYL 2 (HY2) es la única bilina reductasa dependiente de ferredoxina (FDBR) que produce la fitocromobilina para fitocromos. Se ha demostrado que las mutaciones en el gen *HY2* causan la pérdida de todos los fitocromos fotoactivos en las plantas y, además, provocan la interrupción de la fotomorfogénesis (Chen et al., 2012). Los fitocromos existen en dos formas interconvertibles diferentes;  $P_r$  que absorbe la luz roja y la luz roja lejana que absorbe  $P_{fr}$ . Los fitocromos se sintetizan en la oscuridad en la forma  $P_r$  y después de la conversión a la forma  $P_{fr}$ , se mueven al núcleo. La luz roja (660 nm) hace que la conversión de  $P_r$  sea biológicamente activa en forma  $P_{fr}$  y la luz roja lejana (730 nm) la conversión vuelve a la forma  $P_r$ .  $P_{fr}$  también se puede degradar en el proteasoma después de la ubiquitinación si no se revierte a  $P_r$ . Bajo luz blanca que contiene las longitudes de onda roja y roja lejana, el fotoequilibrio se establece después de unos minutos. Las diferentes formas permiten que el fitocromo funcione como un interruptor biológico, activando y desactivando las respuestas permitiendo la detección de ritmos circadianos y cambios estacionales en condiciones de luz (Zoratti et al., 2014).

Los criptocromos son fotorreceptores que contienen flavina para la percepción de la luz azul, verde y UV-A. Los criptocromos participan en la detección de los ritmos circadianos y en la regulación de muchos procesos de desarrollo y adaptación, incluida la biosíntesis de metabolitos secundarios, como los flavonoides (Giliberto et al., 2005; López et al., 2012). También se ha demostrado que las fototropinas que absorben la luz azul y UV-A están involucradas en el fototropismo y la migración del cloroplasto inducida por la luz azul y la apertura del estoma. Hallazgos recientes han demostrado que las fototropinas también juegan un papel en los cambios mediados por la luz azul en la biosíntesis de metabolitos secundarios (Kadomura-Ishikawa et al., 2013).



### 3. METODOLOGÍA

#### 3.1 Área de estudio.



**Figura 7.** Ubicación geográfica de los municipios de Soracá, Tuta y Nuevo Colón en el Departamento de Boyacá, donde fue realizado el estudio. Fuente: el autor.

El estudio se desarrolló dentro de tres localidades del departamento de Boyacá, (Figura 6) en plantaciones de manzana de la variedad “Anna”, en árboles con edad de producción de 5 años aproximadamente, los cuales se encuentran ubicados a altitudes diferentes: Un primer cultivo (370 árboles) en Soracá a 2820 msnm; segundo cultivo (400 árboles) en el municipio de Tuta a 2640 msnm y un tercero (345 árboles) Nuevo Colón a 2450 msnm respectivamente.

#### 3.2 Labores de campo

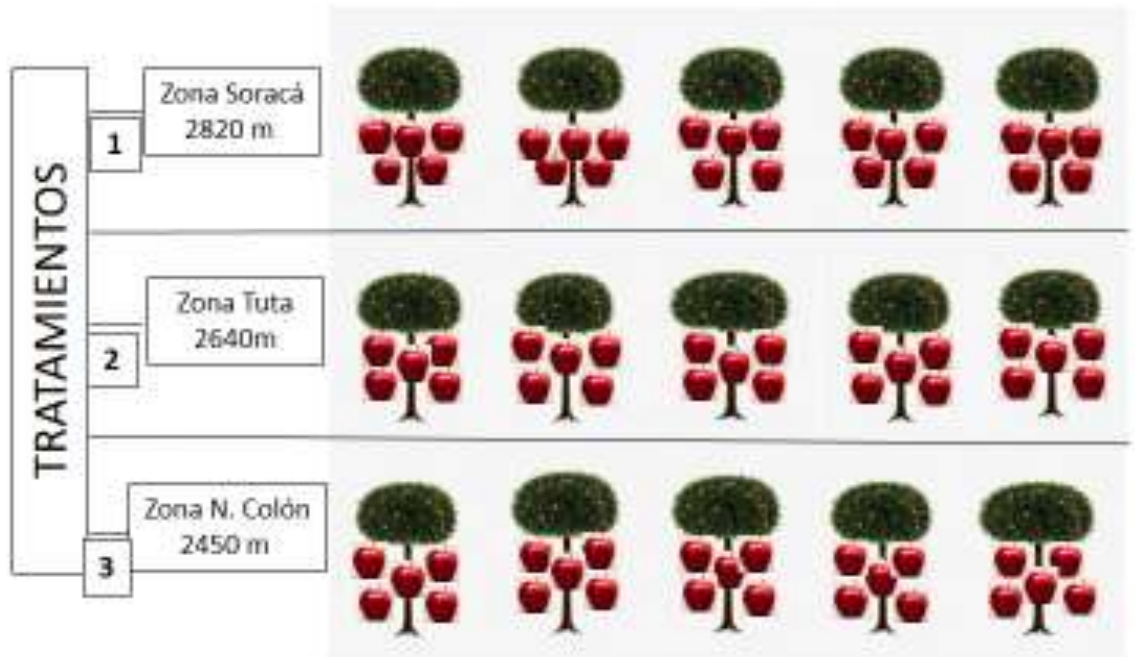
El estudio se realizó en cultivos de manzana Anna ya establecidos con distancias de siembra de 3x3 m para una densidad de plantación de 1111 árboles/ha. Se hizo programación de cosecha simultánea en el mes de agosto de 2017, con el propósito de que coincidiera la última etapa fenológica (maduración de frutos) con temporada seca (Finales de Diciembre) de alta radiación solar, en las tres localidades. El manejo de cultivos en cuanto a labores culturales y técnicas agronómicas aplicadas, fue igual para todos los árboles en las tres localidades.



**Figura 8.** Referencia geográfica satelital, de la ubicación de los cultivos en cada una de las zonas de estudio: A) Localidad de Soracá; B) Localidad de Tuta Y C) Localidad de Nuevo Colón

Finalizado el periodo fenológico que en el cv “Anna” dura aproximadamente 120 días después de plena floración (Trejo & Soto 1991; Garcés & Soto 2000; chillo 2019), se recolectaron en la primera semana de Enero de 2018, frutos completamente maduros, para hacer en laboratorio cuantificación de antocianinas y determinación de sólidos solubles en correlación con datos del índice de radiación ultravioleta (IUV) en cada una de las localidades, durante la etapa de maduración de frutos (30 días).





**Figura 9.** Representación esquemática del plano de campo en el que se representan cada una de las zonas de estudio 1) zona Soracá a 1820 msnm; 2) Zona de Tuta a 2640 msnm; 3) Zona Nuevo Colon a 2450 msnm

### **3.3 Diseño experimental**

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con tres tratamientos, en donde cada tratamiento corresponde a cada una de las altitudes de las localidades del departamento de Boyacá donde se encuentran los cultivos de ensayo. Se conformaron cinco repeticiones en el que cada repetición es un árbol; igualmente cada árbol corresponde a una unidad experimental, para un total de 15 unidades experimentales (Figura 8)

#### **Descripción de tratamientos**

**Tratamiento 1:** Corresponde a un cultivo de manzana “Anna” en un lote de 3330 metros cuadrados aproximadamente, con 370 árboles de manzana “Anna” sembrados a 3x3 m, ubicado en el proyecto frutales caducifolios de la Fundación Universitaria Juan De Castellanos vereda el otro lado a 2820 msnm, municipio de Soracá Boyacá. (Tabla 1)

**Tratamiento 2:** Cultivo de manzana “ANNA” de 400 árboles, sembrados a 3x3 m, en un área aproximada de 3600 m<sup>2</sup> ubicado en la vereda de Agua Blanca a 2640 msnm en el municipio de Tuta Boyacá.

**Tratamiento 3:** El tratamiento 3 hace referencia a un cultivo de manzana “ANNA” de 345 árboles plantados a 3X3m., en área aproximada de 3105 m<sup>2</sup> a 2450 msnm en Nuevo Colon Boyacá.

De cada uno de los cultivos descritos para cada altitud, se tomaron aleatoriamente 5 árboles siendo cada uno una repetición de los cuales se



tomaron las respectivas muestras a analizar. Un árbol representa una unidad experimental para un total de 15 unidades experimentales.

**Tabla 2.** Descripción de tratamientos

<b>T</b>	<b>Localidad</b>	<b>Altitud(msnm)</b>	<b>Repeticiones</b>	<b>N. Árboles por repetición</b>
1	Soracá	2820	5	1
2	Tuta	2640	5	1
3	N. Colon	2450	5	1

### **Índice de radiación UV (IUV)**

Con el objetivo de relacionar la radiación UV-B de cada altitud con la biosíntesis de antocianinas, El IUV se tomó de los datos emitidos diariamente por el IDEAM durante 30 días del mes de diciembre de 2018, etapa en la que ocurrió la maduración de frutos, en cada uno de los municipios objeto de estudio (Anexo 1)

### **3.3 Métodos de laboratorio.**

#### **Extracción y purificación de antocianinas totales**

De cada uno de los árboles de las repeticiones de cada tratamiento, se recolectaron al azar 5 frutos maduros de parte alta, parte media y parte baja de la planta. En el laboratorio de biología de la Fundación Universitaria Juan De Castellanos se realizó el proceso de extracción. Se retiró la piel de los frutos maduros guardando estricto orden por tratamiento y repetición. Se homogenizo la cantidad de piel de las cinco manzanas de cada árbol, y posteriormente se pesaron en balanza analítica 4 gramos de piel, como muestras representativas de cada repetición (Árbol). Los 4 gramos de cada muestra se maceraron por separado con mortero, agregando 23ml de metanol agua en una mezcla al 50%. Se vertió cada muestra en tubos de ensayo y luego se centrifugo el total de muestras (15), para precipitar partículas sólidas de residuos vegetales. El sobrenadante de cada muestra se extrajo y se empacó herméticamente para pruebas de absorbancia.

#### **Cuantificación de antocianinas totales**

##### **Absorbancia**



Las muestras del sobrenadante con los extractos de cada tratamiento, fueron enviadas al laboratorio del Dr. ERICH GROTEWOLD de la UNIVERSIDAD ESTATAL DE MICHIGAN, USA. Donde se realizaron los análisis de absorbancia para la cuantificación de antocianinas totales. Las absorbancias se realizaron en espectrofotómetro de referencia “Thermo scientific spectrophotometer NanoDrop 2000C, Model: ND2000C” a una longitud de onda de 532 nm banda en la que hay absorbancia de la mayoría de antocianinas (Figura 11)



**Figura 10.** Espectrofotómetro uv en el cual se hizo análisis de absorbancia para extractos de pigmentos en manzana.

### Cuantificación

Los valores de absorbancia (Anexo2) se utilizaron en la fórmula 1 para cuantificar antocianinas totales.

$$\text{Antocianinas totales(mg/100g)} = \frac{ab.532.V.449.1000}{PESO.23900} \quad (1)$$

Donde ab es la absorbancia, 532 longitud de onda para la absorbancia de antocianinas V es el volumen del agente extractor utilizado, 449 es el peso molecular el peso corresponde es el peso molecular de la antocianina de referencia y 23900 es el índice molar.

### Solidos solubles



**Figura 11.** Refractómetro de alimentos HI 96811 donde se realizó la determinación de sólidos solubles.

Para la determinación de sólidos solubles totales (SST) Se tomaron muestras de zumo de manzana, utilizando los mismos frutos de los que se extrajo la cáscara para la cuantificación de antocianinas por tratamientos y sus repeticiones, las cuales se analizaron en refractómetro digital **HI 96811** (Figura11).

### 3.4 Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos fueron realizados en el paquete estadístico R (v3.2.3, <http://www.r-project.org/>). Para identificar diferencias entre las diferentes zonas estudiadas, se llevó a cabo una prueba no paramétrica de kruskal-wallis. Dada las muestras pequeñas Adicionalmente, para identificar diferencias entre los diferentes pares de zonas, indicadas por cada una de las figuras, se realizó una comparación de medias por medio de la prueba no paramétrica Wilcoxon. La significancia de las diferencias fueron marcadas en las correspondientes comparaciones como sigue: ns:  $p > 0.05$ , \*:  $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$ , \*\*\*:  $p \leq 0.001$ , \*\*\*\*:  $p \leq 0.0001$ .

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Índice Ultravioleta (IUV)

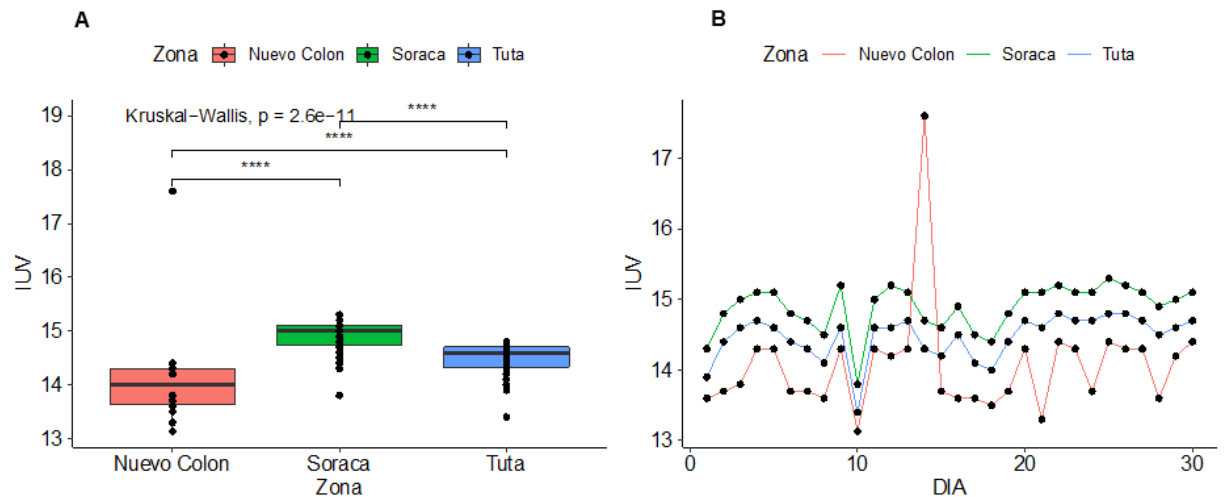
El valor del IUV varía a lo largo del día. Al hablar del índice de un día se hace especial señalamiento sobre la intensidad máxima de la RUV en el día determinado, que se produce durante el período de cuatro horas en torno al medio día solar. Los datos de IUV recolectados para cada una de las localidades, muestran que de acuerdo a la clasificación de categorías aportadas por Benavides (2010) el IUV para el periodo de observación en las tres localidades es extremadamente alto; pues todos los valores superan el 11+. (Tabla 2)



**Tabla 3.** Valores del IUV registrados en cada una de las zonas de estudio, durante la etapa de maduración de frutos.

Mes de Diciembre	IUV SORACÁ	IUV TUTA	IUV N.COLON
1	14,3	13,9	13,6
2	14,8	14,4	13,7
3	15	14,6	13,8
4	15,1	14,7	14,3
5	15,1	14,6	14,3
6	14,8	14,4	13,7
7	14,7	14,3	13,7
8	14,5	14,1	13,6
9	15,2	14,6	14,3
10	13,8	13,4	13,13
11	15	14,6	14,3
12	15,2	14,6	14,2
13	15,1	14,7	14,3
14	14,7	14,3	17,6
15	14,6	14,2	13,7
16	14,9	14,5	13,6
17	14,5	14,1	13,6
18	14,4	14	13,5
19	14,8	14,4	13,7
20	15,1	14,7	14,3
21	15,1	14,6	13,3
22	15,2	14,8	14,4
23	15,1	14,7	14,3
24	15,1	14,7	13,7
25	15,3	14,8	14,4
26	15,2	14,8	14,3
27	15,1	14,7	14,3
28	14,9	14,5	13,6
29	15	14,6	14,2
30	15,1	14,7	14,4
<b>PROMEDIO</b>	<b>14.9</b>	<b>14.4</b>	<b>14.1</b>

Aun así, el mayor promedio de IUV (14.9) se obtuvo a una mayor altitud, que fue en la zona correspondiente a Soracá (Tabla1). Como se puede observar en a figura11, la relación entre altitud IUV, es directamente proporcional; a mayor altitud mayor IUV.



**Figura 12.** Comparación pareada entre la altitud de cada zona y el IUV incidente (A) y comportamiento diario del IUV para cada zona, durante la etapa de maduración de frutos (B). Los asteriscos sobre comparación entre pares indican DES.

La comparación entre la altitud y los valores de IUV muestra que con un nivel de significancia  $P < 0,05$ , se presentaron diferencias estadísticamente significativas (DES) entre todas las comparaciones entre zonas (Figura 12A), confirmándose que hay una más alta exposición de radiación ultravioleta, en la medida en que se asciende (Rivas et al., 2004; Jaakola & Hohtola 2010; Turunen & Latola 2005) . Aunque la correlación pareada entre las diferentes zonas de altitud expresa diferencias significativas, es importante señalar que la mayor diferencia significativa en promedio de IUV se presenta entre la zona de Soracá con  $IUV = 14.9$  y Nuevo Colón con un  $IUV = 14.1$ . Los valores del IUV tomados diariamente durante la etapa de maduración de frutos para cada zona de estudio no presentan diferencias considerables entre días (Figura 12B) a excepción de un día de mayor índice en Nuevo Colon.

#### 4.2 Cuantificación de antocianinas totales

Debido a su estructura, las antocianinas presentan máximos de absorción tanto en la región visible como en la ultravioleta, lo que resulta muy importante para la caracterización estructural y cuantificación de dichos compuestos. Sus espectros de absorción se caracterizan por tener dos bandas separadas en la región visible entre 465 y 550 nm y otra más pequeña en el UV alrededor de 275nm. Es así como se pueden identificar las antocianinas por su absorción en la región visible (Santacruz 2011).

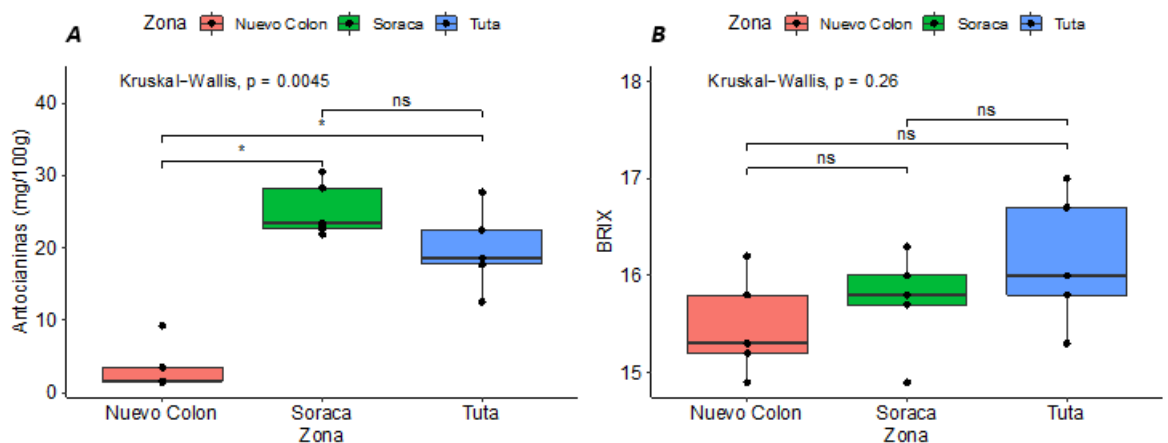
La longitud de onda que se utilizó en el espectrofotómetro para realizar la absorbancia fue de 532nm, cuyos resultados globales se presentan en la tabla 3.

**Tabla 3.** Valores de absorbancia y antocianinas totales para todas las muestras de las 3 zonas de estudio, a una longitud de onda de 532nm



Muestras	nm	Abs.	Antoc: mg/100g
S 1-1	532	0,412	23,36
S 1-2	532	0,4	22,68
S 1-3	532	0,385	21,83
S 1-4	532	0,498	28,24
S 1-5	532	0,538	30,51
Promedios		<b>0,4446</b>	<b>25,424</b>
T 2-1	532	0,328	18,6
T 2-2	532	0,312	17,69
T 2-3	532	0,221	12,53
T 2-4	532	0,396	22,46
T 2-5	532	0,488	27,67
Promedios		<b>0,349</b>	<b>19,79</b>
NC 3-1	532	0,163	9,24
NC 3-2	532	0,028	1,58
NC 3-3	532	0,025	1,41
NC 3-4	532	0,061	3,45
NC 3-5	532	0,027	1,53
Promedios		<b>0,0608</b>	<b>3,442</b>

S= Soracá, T= Tuta, NC= Nuevo Colón



**Figura 13.** Comparación pareada entre la acumulación promedio de antocianinas totales con respecto a la altitud de las zonas de estudio (A). y concentración de sólidos solubles totales para las muestras de cada zona (B)



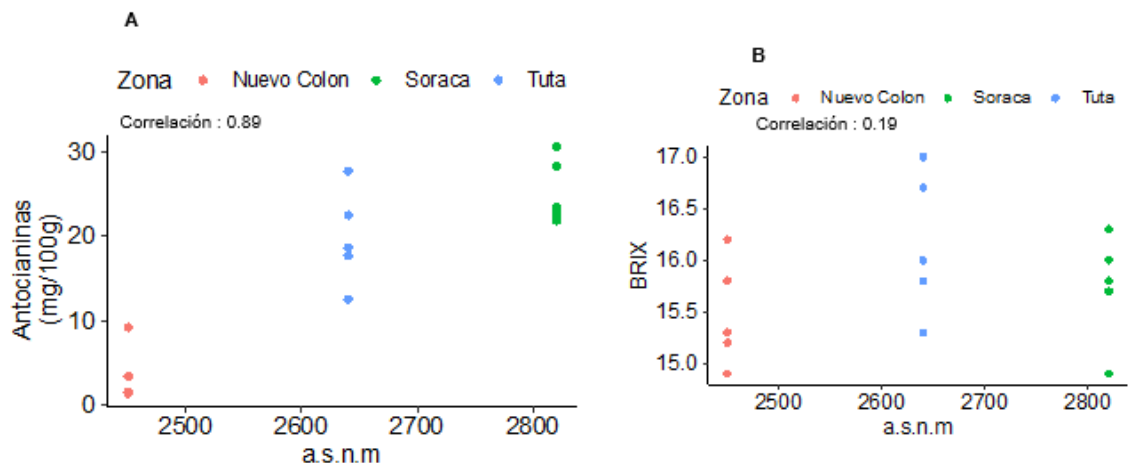


Asteriscos sobre las líneas de error indican SDs entre las zonas independientes. "\*\*\*\*" indica  $P < 0,0001$ . Valores cercanos a 0 indican correlación negativa.

La acumulación de antocianinas totales fue mayor en la zona de estudio de Soracá con 25,424 mg/100g de piel fresca. La zona correspondiente a Tuta está en una situación intermedia con un promedio de acumulación de 1979 mg/mg. Con una acumulación de antocianinas totales de 3,44 mg/100g en la zona de nuevo colon se encontró el valor más bajo. (Tabla 3). Se estima que con nivel de significancia de  $P < 0,0001$ , se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las altitudes de Soracá-Nuevo Colon y Tuta -Nuevo Colón; mientras que entre Soracá-Tuta no se presentaron DES, como se demuestra en la Figura 13A.

### 4.3 Sólidos Solubles

Uno de los parámetros a tener en cuenta en la evaluación de la calidad de las manzanas, son los sólidos solubles (De tres 2009). En este estudio se ha querido determinarlos, para contrastar sus contenidos con la acumulación de antocianinas totales. Los promedios de sólidas solubles encontrados en cada una de las altitudes de estudio se presentan en la tabla 4. Es de notar que no se han hallado diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes zonas de cultivo (Figura 13B). Sin embargo en este análisis se ha encontrado que la síntesis de azúcares fue ligeramente mayor (16,16 °Brix) en la zona de Tuta a 2640 msnm; Soracá obtuvo un promedio de 14,74 °Brix y nuevo colon 1548 °Brix. Los análisis estadísticos que muestran la comparación entre la biosíntesis de antocianinas y los contenidos de azúcares, permiten estimar que no hubo una correlación positiva entre ellas, por cuanto los frutos cultivados en Soracá que obtuvieron los mayores promedios en antocianinas totales; no ocurrió lo mismo con la concentración SST.



**Figura14.** Comparación pareada entre la acumulación de antocianinas totales por repetición respecto a la altitud de las zonas de estudio (A). y concentración de sólidos solubles totales para las muestras de cada zona (B)

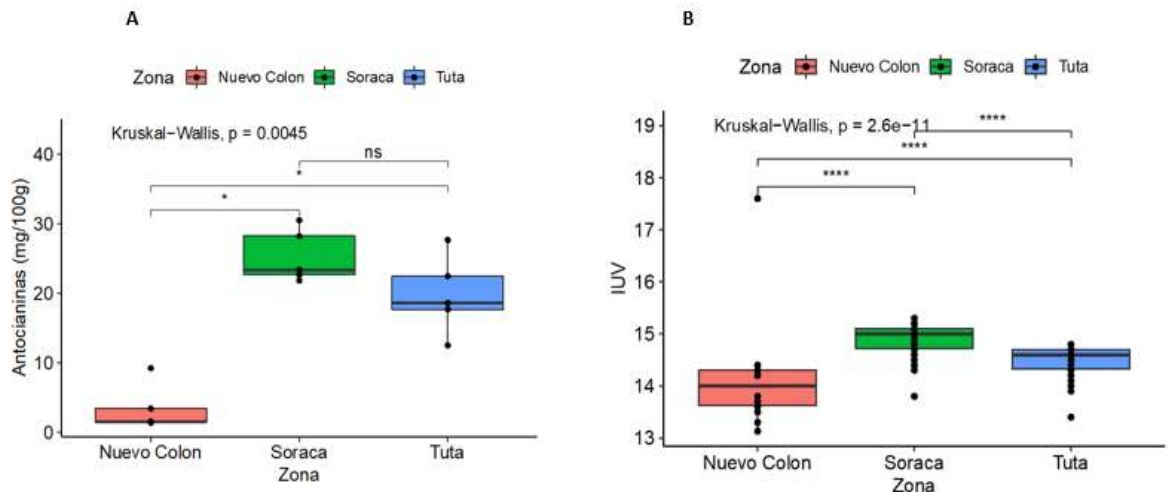




**Tabla 4.** Valores promedio de antocianinas totales y SST hallados en los frutos de manzana en cada una de las zonas de estudio respecto del IUV.

Zona	Antocianinas totales	°Brix	IUV
Soracá	25.24 mg/100g	15.74	15.9
Tuta	19.79 mg/100g	16.16	14.4
Nuevo Colón	3.44 mg/100g	15.48	14.1

Si se comparan los contenidos totales de antocianinas biosintetizadas con el IUV registrado para la fase de maduración de frutos, (30 días) existe una correlación positiva por cuanto a mayor incidencia de la radiación UV mayor fue la biosíntesis de antocianinas (Figura 13); mientras que en los valores más bajos del IUV registrados (Nuevo Colón) el total de antocianinas fue menor.



**Figura15.** Comparación entre la acumulación de antocianinas totales en las zonas de estudio, y el IUV incidente. Se demuestra que a una mayor altitud (Soracá), el IUV es mayor y por lo tanto la acumulación de antocianinas se incrementa.

## 5. DISCUSIÓN

### 5.1 Índice de radiación UV (IUV)

El índice UV, que puede ser medido o calculado, es una forma estandarizada de representar la cantidad de UVR llegando a la tierra a una hora y en un lugar determinado. (Gies et al., 2018).

En el presente trabajo se ha verificado que el IUV es mayor en la localidad de Soracá, en la cual el cultivo de manzana en estudio se ubica a una altitud de 2820 msnm. Con los resultados que se reportan sobre estas tres localidades,



simplemente se constata que la radiación UV se incrementa con la altitud. La explicación de este fenómeno es que la capa atmosférica en altura es más delgada, por lo que la distancia de recorrido por los rayos uv es más corta. Esto puede corroborarse con la afirmación aportada por varios autores (Delgado 2003; Fioletov & Fergusson 2010) quienes manifiestan que la radiación UV aumenta con la altitud debido a que la cantidad de absorbentes en la atmósfera decrece con la altura. Las medidas demuestran que la radiación UV aumenta entre un 6% y un 8% por cada 1000 m. de elevación. Igualmente para ahondar un poco más sobre este concepto, Rivas et al., (2004) dice que la altitud sobre el nivel del mar, ha generado datos que revelan que la radiación UV aumenta entre un 4 y un 10% por kilómetro sobre el nivel del mar obteniéndose un promedio de 5,6% de incremento de la RUV por kilómetro de altitud.

En la figura 11B, se muestra que el comportamiento del IUV presenta algunas variaciones diarias, a pesar de que son valores tomados en el mes de diciembre periodo de tiempo en el que habitualmente tiene cielos despejados por temporada seca. Puede ocurrir que en el momento de la toma de datos que para IUV registran entre 11 am a 2 pm. (IDEAM), se presenten nubes momentáneas que dispersan los rayos UV. Con respecto a este tema, Delgado (2003) afirma que, La radiación UV es mayor generalmente para cielos totalmente despejados, como normalmente sucede en meses de Diciembre y Enero. Aduce Benavides (2010), que las nubes normalmente reducen la cantidad de radiación UV, pero la atenuación depende del grosor y tipo de éstas. Las nubes finas o dispersas afectan muy poco a la radiación UV. En ciertas condiciones, y por periodos cortos de tiempo, una pequeña cantidad de nubes puede incluso hacer aumentar la cantidad de radiación UV, esto sucede normalmente en condiciones de cielos parcialmente cubiertos y con el sol visible. En condiciones de polvo en suspensión, situación frecuente en zona con operaciones mineras, la radiación es dispersada y da lugar a una disminución de la misma. (Bais et al., 2018)

Aun con esas pequeñas variaciones en los registros diarios, el IUV en todos los datos reportados en las tres zonas de estudio fue alto. Como ya se ha dicho, la principal causa es la nitidez atmosférica que se presenta en esa temporada del año y en todo caso las zonas de estudio se encuentran en el altiplano Boyacense. Los datos de IUV recolectados para cada una de las localidades, muestran que de acuerdo a la clasificación de categorías aportadas por Benavides (2010) el IUV para el periodo de observación en las tres localidades es extremadamente alto; pues todos los valores superan el 11+. (Tabla 2)

## **5.2 Antocianinas totales**

Los resultados que se obtuvieron de este trabajo, revelaron que los más altos niveles en biosíntesis de antocianinas totales, se presentó en frutos de manzana cultivados a mayor altitud que fue en Soracá (2820 msnm). Es importante señalar que en este estudio se ha observado que la acumulación de antocianinas totales fue directamente proporcional a la altitud y a la RUV registrada, por lo que se establece una correlación positiva entre el IUV, altitud y biosíntesis de antocianinas en las zonas estudiadas. Similares resultados han encontrado muchos investigadores en manzanas, pero



también con otros frutos y especies de plantas diferentes. Estos resultados coinciden por ejemplo con Arakawa et al., (1985); Kataoka et al., (1996). Quienes en estudios previos a la cosecha, mostraron una mejora de los niveles de antocianinas como respuesta a la irradiación UV en manzanas y cerezo dulce. Coherentemente en otro estudio más reciente por Ban et al., (2007); Peng et al., (2013), hallaron que el tratamiento de irradiación con UV-B aumento el contenido de antocianinas y la expresión de los genes de la vía *MdMYB* y antocianinas en la piel de manzana. Parece ser que la biosíntesis de antocianinas no depende exclusivamente de la exposición persè a la radiación UV; estudios han revelado que hay asuntos genéticos involucrados en el proceso. Es así que investigación realizada por (Bai et al., 2014), mostraron que una proteína B-box en manzana, el gen *MdCOL11* homólogo de *AtBBX22*, están involucrados en la absorción del espectro UV-B y la biosíntesis de antocianinas inducida por la temperatura en la cáscara de manzana. Por otra parte, Takos et al., (2006) hallaron que el factor de transcripción *MdMYB1* de células de uva (*vitis vinifera*), estimuló la transcripción de los promotores de dos genes de manzana, que codifican enzimas biosintéticas antocianicas. Han indicado estos mismos autores que en la maduración de la fruta de manzana, la transcripción de *MdMYB1* se correlacionó con la síntesis de antocianina en los sectores de la piel roja a su vez mediados por la luz.

La altitud se torna en ambiente estresante para las manzanas, por la alta incidencia de la radiación UV. Lo que se corrobora con este estudio es que la respuesta a este ambiente estresante es incrementar la concentración de antocianinas como mecanismo de defensa. Así lo demuestran otros estudios no solo con manzanas; pues Van DE Staaij et al., (2002) Se ha encontrado con que las especies de gramíneas como *Deschampsia antarctica*, *Deschampsia borealis* y *Calamagrostis epigeios* que crecen en regiones con niveles elevados de radiación solar UV-B tienen altos niveles constitutivos de flavonoides como las flavonas orientina y luteolina, que protegen a las plantas contra esta condición de estrés. De manera similar, las plantas de maíz que crecen a gran altura acumulan flavonas C- glucosilo en las hojas, maysin y su precursor biosintético, ramnosilisoorientina, flavonas que se encuentran comúnmente en las sedas, como un mecanismo que previene el daño causado por la alta exposición a los rayos UV-B (Zhang et al., 2003 ; Casati & Walbot, 2005).

La uva caimaronana fue almacenada durante seis días entre 1 y 25 °C. Los frutos manifestaron lesiones por frío al, 10 y 15 °C, estos daños se hicieron mayores al incrementar el tiempo de exposición al frío y al disminuir la temperatura. Tanto a 20 como a 25 °C los frutos maduraron de manera adecuada. La disminución de la temperatura de almacenamiento de 25 a 20 °C inhibió el metabolismo de azúcares y ácidos carboxílicos. Las lesiones por frío en los frutos refrigerados a 1 °C estuvieron relacionadas con menores valores



de pH, sólidos solubles y actividades de catalasa. (Cuenca & Restrepo 2003). Finalmente estos resultados descritos pueden ser apoyados por Falcone et al., (2012). Quienes han documentado que Niveles de transcripción más altos están presentes en plantas de gran altitud donde hay altos niveles de radiación UV-B que en bajas altitudes. En consecuencia, considerando el papel protector de los flavonoles a la radiación UV-B, hipotetizan que los altos niveles de transcripción de los genes *ZmFLS* también pueden contribuir a la adaptación a esta condición de estrés con flujos UV-B más altos.

### **Sólidos solubles totales (SST)**

De acuerdo a los resultados encontrados, parece no haber una relación directa entre la concentración de antocianinas totales y la síntesis de azúcares. Según la figura 13B, no se presentaron diferencias significativas en esta correlación. De manera que pueden haber frutos muy coloreados con bajos contenidos de azúcares. Es posible que este atributo tenga relación con la temperatura incidente en la etapa de maduración. Al respecto Cuenca & Restrepo (2003) hicieron un estudio en el que la uva caimaroná fue almacenada durante seis días entre 1 y 25 °C. Los frutos manifestaron lesiones por frío a, 10 y 15 °C. Estos daños se hicieron mayores al incrementar el tiempo de exposición al frío y al disminuir la temperatura. Tanto a 20 como a 25 °C los frutos maduraron de manera adecuada. La disminución de la temperatura de almacenamiento de 25 a 20 °C inhibió el metabolismo de azúcares y ácidos carboxílicos. Las lesiones por frío en los frutos refrigerados a 1 °C estuvieron relacionadas con menores valores de pH, sólidos solubles y actividades de catalasa.



## 6. Conclusiones

El análisis de los resultados obtenidos en el presente estudio, permiten concluir que la manzana (*Malus domestica* borth) cv “ANNA” que se cultiva a una mayor exposición de radiación UV condicionada por la altitud, exhibe una mejora en su calidad fisicoquímica en cuanto a una mayor pigmentación del rojo, por una alta actividad biosintética de antocianinas.

En este estudio que se ha realizado en condiciones ambientales de trópico alto en Boyacá, se ha demostrado que existe una correlación positiva directamente proporcional entre altitud, intensidad de la radiación UV y la biosíntesis de antocianinas.

## 7. Recomendaciones

Se recomienda realizar otros estudios al respecto para corroborar resultados ya que esta fue un trabajo realizado solo para un ciclo productivo.

Se recomienda hacer estudios similares teniendo en cuenta otras condiciones climáticas que no sean necesariamente en tiempo seco con alta iluminación, para poder contrastar resultados.

Sería importante medir otras variables ambientales como temperatura y luz visible. Igualmente tener en cuenta otros parámetros de calidad de los frutos como acidez, minerales, tamaño y peso de frutos etc.

Dada la importancia y el auge que está teniendo la investigación científica sobre la capacidad antioxidante y otros beneficios de las antocianinas y otros productos del metabolismo secundario se recomienda hacer complementariamente este tipo de estudios.



## 8. BIBLIOGRAFIA.

- Agati, G., Biricolti, S., Guidi, L., Ferrini, F., Fini, A., and Tattini, M. (2011). The biosynthesis of flavonoids is enhanced similarly by UV radiation and root zone salinity in *L. vulgare* leaves. *J. Plant Physiol.* 168, 204–212.
- Aguilera-Otíz, M., del Carmen Reza-Vargas, M., Chew-Madinaveita, R. G., & Meza-Velázquez, J. A. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. *Biotechnia*, 13(2), 16-22.
- Agustí, M. 2000. Fruticultura. : E libro, ProQuest ebrary. Web. 4 May 2016.
- Andersen, P. C. (2019). Low-Chill Apple Cultivars for North Florida and North, (May), 1–8.
- Appelhagen, I., Wulff-Vester, A. K., Wendell, M., Hvoslef-Eide, A. K., Russell, J., Oertel, A., Matros, A. (2018). Colour bio-factories: Towards scale-up production of anthocyanins in plant cell cultures. *Metabolic engineering*, 48, 218–232. doi:10.1016/j.ymben.2018.06.004
- Arakawa, O. (1993). Effect of ultraviolet light on anthocyanin synthesis in lightcolored sweet cherry, cv. Sato Nishiki. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.* 62, 543–546. Doi: 10.2 ,R.(1985).Relative effectiveness and interaction of ultraviolet-B, red and blue light in anthocyanin synthesis of apple fruit. *Physiol. Plant.* 64, 323–327. Doi: 10.1111/j.1399-3054.1985.tb03347.x
- Ávalos, G., E. & Pérez, C. (2009). Metabolismo secundario de plantas Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2 (3): 119-145 Departamento de Biología Vegetal I (Fisiología Vegetal). Facultad de Biología. Universidad Complutense. Madrid.
- Angelini, R. (2008). Il melo. Coltura & cultura. Botánica, historia e arte, alimentazione, paesaggio, coltivazione, ricerca, utillizzazione, mondo e mercato. Italia. 2-25pp.
- Ballén, J. B., & Mogollón, J. F. P. (2007). Radiación ultravioleta. *Ciencia y Tecnología para la Salud Visual y Ocular*, (9), 97-104.
- Bai, S., Saito, T., Honda, C., Hatsuyama, Y., Ito, A., & Moriguchi, T. (2014). An apple B-box protein, MdCOL11, is involved in UV-B- and temperature-induced anthocyanin biosynthesis. *Planta*, (October), 1051–1062. <http://doi.org/10.1007/s00425-014-2129-8>
- Bais, A. F., , Lucas, R. M., , Bornman, J. F., , Williamson, C. E., , Sulzberger, B., , Austin, A. T., , ... Heikkilä, A. M., (2018). Environmental effects of ozone depletion, UV radiation and interactions with climate change: UNEP Environmental Effects Assessment Panel, update 2017. *Photochemical & photobiological sciences: Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology*, 17(2), 127–179. doi:10.1039/c7pp90043k
- Barnes P.W., Flint S.D. & Caldwell M.M. (1987) Photosynthesis damage and protective pigments in plants from a latitudinal arctic/alpine gradient exposed to supplemental UV-B radiation in the field. *Arctic and Alpine Research* 19, 21–27. Bohm B. (1998) Introduction of Flavonoids. Harwood Academic Publishers, Singapore



- Ban, Y., Honda, C., Hatsuyama, Y., Igarashi, M., Bessho, H., and Moriguchi, T. (2007). Isolation and functional analysis of a MYB transcription factor gene that is a key regulator for the development of red coloration in apple skin. *Plant Cell Physiol.* 48, 958–970. doi: 10.1093/pcp/pcm066
- Benavides, H. (2010). Información técnica sobre la radiación ultravioleta, el índice UV y su pronóstico. *Instituto de Hidrología Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM), Bogotá.*
- Bi, X., Zhang, J., Chen, C., Zhang, D., Li, P., & Ma, F. (2014). Anthocyanin contributes more to hydrogen peroxide scavenging than other phenolics in apple peel. *Food Chemistry*, 152(JUNE), 205–209. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.088>
- Bogs, J., Jaffé, F. W., Takos, A. M., Walker, A. R., and Robinson, S. P. (2007). The grapevine transcription factor VvMYBPA1 regulates proanthocyanidin synthesis during fruit development. *Plant Physiol.* 143, 1347–1361. doi: 10.1104/pp.106.093203
- Butelli E, Titta L, Giorgio M, Mock HP, Matros A, Peterek S, et al. (2008). Enrichment of tomato fruit with health-promoting anthocyanins by expression of select transcription factors. *Nat Biotechnol.* 26(11):1301–8
- Carrasco-Ríos, L. (2009). Efecto de la radiación ultravioleta-B en plantas. *Idesia (Arica)*, 59–76. <http://doi.org/10.4067/S0718-34292009000300009>
- Carbonell-Bejerano, P., Diago, M. P., Martínez-Abaigar, J., Martínez-Zapater, J. M., Tardaguila, J., & Núñez-Olivera, E. (2014). Solar ultraviolet radiation is necessary to enhance grapevine fruit ripening transcriptional and phenolic responses. *BMC plant biology*, 14, 183. doi:10.1186/1471-2229-14-183
- Cárdenas, J; Fischer, G. (2013). Clasificación botánica y morfología de manzano, peral, duraznero y ciruelo
- Castagna, A., Dall'Asta, C., Chiavaro, E., Galaverna, G., and Ranieri, A. (2014). Effect of post-harvest UV-B irradiation on polyphenol profile and antioxidant activity in flesh and peel tomato fruits. *Food Bioprocess Technol.* 7, 2241–2250. doi: 10.1007/s11947-013-1214-5
- Canuto, G. A. B., Oliveira, D. R., Da Conceição, L. S. M., Farah, J. P. S., & Tavares, M. F. M. (2016). Development and validation of a liquid chromatography method for anthocyanins in strawberry (*Fragaria* spp.) and complementary studies on stability, kinetics and antioxidant power. *Food Chemistry*, 192, 566–574. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.09>
- Casati, P., and Walbot, V. (2005). Differential accumulation of maysin and rhamnosylisoorientin in leaves of high-altitude landraces of maize after UV-B exposure. *Plant Cell Environ.* 28, 788–799.
- Chen, C., Xiao, Y. G., Li, X., and Ni, M. (2012). Light-regulated stomatal aperture in *Arabidopsis*. *Mol. Plant* 5, 566–572. doi: 10.1093/mp/sss039
- Chanoca, A., Kovicich, N., Burkel, B., Stecha, S., Bohorquez-restrepo, A., Ueda, T., ... Otegui, M. S. (2015). Anthocyanin Vacuolar Inclusions Form by a Microautophagy Mechanism, 1–16. <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00589>
- Chillo Heras, J. P. (2019). *Evaluación de defoliantes químicos en el cultivo de manzana (Malus domestica Borkh.) cv. Anna en la granja El Romeral* (Bachelor's thesis).



- Crocker, T.E., Sherman, W. B. & Williamson, J.G . (2016). La manzana en florida. *IFAS Extencion. UNIVERSITY OF FLORIDA*, 1–3.
- Coque, M; Díaz, MB; García, JC. (2012). El cultivo de manzano. Centro de investigación
- Cuenca, C. E. N., & Restrepo, P. (2003). Efecto del almacenamiento de Uva Caimarona (*Pourouma cecropiifolia*) a diferentes temperaturas sobre los sólidos solubles y la actividad de catalasa. *Revista Colombiana de Química*, 32(2), 81-92.
- Delgado, L. (2003). Índice ultravioleta. *Departamento de Física, Universidad de Antofagasta*.
- De Tres, V. D. M. C. (2009). Características fisicoquímicas de los frutos de tres variedades de manzanas cultivadas en la región centro-este de la provincia de Santa Fe. *Revista FAVE-Ciencias Agrarias*, 8, 1.
- Di Vaio, Claudio. (2005). Moderne tecniche di coltivazione della mela Annurca in Campania. *Frutticoltura*.
- Domínguez, M. (2008). Estudio de la variabilidad morfológica en el Banco Nacional de Germoplasma del Manzano. 4.
- Falcone Ferreyra, M. L., Rius, S. P., and Casati, P. (2012). Flavonoids: Biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Front. Plant Sci.* 3:222. doi: 10.3389/fpls.2012.00222
- Farman, J., Gardiner, B., and Shanklin, J. (1985). Large losses of total ozone in Antarctica reveal seasonal ClOx/NOx interaction. *Nature* 315, 207–210. doi: 10.1038/315207a0
- Fischer, G. & Miranda D. 2013 *Los Frutales Caducifolios En Colombia Situación Actual, Sistemas de Cultivo Y Plan de Desarrollo*.
- Fioletov, V., Kerr, J. B., & Fergusson, A. (2010). The UV index: definition, distribution and factors affecting it. *Canadian journal of public health*, 101(4), 15-19.
- Fredes, C., Montenegro, G., Zoffoli, J. P., Santander, F., & Robert, P. (2014). Comparison of the Total Phenolic Content, Total Anthocyanin Content and Antioxidant Activity of Polyphenol-Rich Fruits Grown in Chile. *Ciencia E Investigación Agraria*, 41(1), 9–10. <http://doi.org/10.4067/S0718-16202014000100005>
- Garcés, N. B., & Soto, G. M. (2000). Producción del manzano (*Malus sp. cv Anna*) en el oriente Antioqueño con la abeja melífera, *Apis mellifera* L.(hymenoptera: apidae). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 53(1), 849-862.
- Gies, P., van Deventer, E., Green, A. C., Sinclair, C., & Tinker, R. (2018). Review of the Global Solar UV Index 2015 Workshop Report. *Health physics*, 114(1), 84–90. doi:10.1097/HP.0000000000000742
- Giliberto, L., Perrotta, G., Pallara, P., Weller, J. L., Fraser, P. D., Bramley, P. M., et al. (2005). Manipulation of the blue light photoreceptor cryptochrome 2 in tomato affects vegetative development, flowering time, and fruit antioxidant





- content. *Plant Physiol.* 137, 199–208. doi: 10.1104/pp.104.051987
- Gilmore, J. W. (2010). Medición y predicción de la radiación solar global UV-B bajo cielos claros y sin nubes. *Uniciencia*, (24), 111-120.
- Giovannoni J, Nguyen C, Ampofo B, Zhong S, Fei Z. (2017). The epigenome and transcriptional dynamics of fruit ripening. *Ann Rev Plant Biol.* 68:61–84.
- González Talize, J., Yuri Salomón, J. (Prof. G., & Del Pozo Lira, A. (Prof. G. (2012). Influencia del clon y la luz dentro de la planta sobre la concentración de pigmentos, flavonoides, capacidad antioxidante y el color en manzanas Gala. Retrieved from <http://dspace.usalca.cl/handle/1950/9379>
- Gomez, M. S. M. (1980). *Influencia de las radiaciones uv sobre el crecimiento y pigmentos liposolubles en el ciclo vegetativo de nicotiana rustica l. Y hordeum distichon l* (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid).
- Goult Kevin, K. D. & C. W. (2009). Anthocyanins. Biosynthesis, Functions, and Applications. (K. G. K. Davies, C. and F. Research, P. North, N. Zealand, Daviesk@crop.cri.nz, S. of B. Sciences, ... Winefiec@lincoln.ac.nz, Eds.). New York: Springer Netherlands. <http://doi.org/10.1007/978-0387-77335-3>
- Gould KS, Mckelvie J, Markham KR.(2002). Do anthocyanins function as antioxidants in leaves? Imaging of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in red and green leaves after mechanical injury. *Plant Cell Environ.* 25:1261–9.
- Gould, K. S. (2004). Nature 's Swiss Army Knife : The Diverse Protective Roles of Anthocyanins in Leaves, 5, 314–320
- Guo, N., Han, S., Zong, M., Wang, G., Zheng, S., & Liu, F. (2019). Identification and differential expression analysis of anthocyanin biosynthetic genes in leaf color variants of ornamental kale, 1–17.
- Grotewold, E. (2006). The genetics and biochemistry of floral pigments. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57: 761–780.
- Harborne, J.B.; Williams, C.A. (1995). Anthocyanins and other flavonoids. *Nat. Prod Rep.*, 639-657
- Hagen, S. F., Borge, G. I. A., Bengtsson, G. B., Bilger, W., Berge, A., Haffner, K., et al. (2007). Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh., cv. Aroma): effect of postharvest UV-B irradiation. *Postharvest Biol. Tec.* 45, 1–10. doi: 10.1016/j.postharvbio.2007.02.002
- He, J., and Giusti, M. (2010). Anthocyanins: natural colorants with healthpromoting properties. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 1, 163–187. doi: 10.1146/annurev.food.080708.100754
- Hu, D. G., Sun, C. H., Zhang, Q. Y., An, J. P., You, C. X., & Hao, Y. J. (2016). Glucose Sensor MdHXK1 Phosphorylates and Stabilizes MdbHLH3 to Promote Anthocyanin Biosynthesis in Apple. *PLoS genetics*, 12(8), e1006273. doi:10.1371/journal.pgen.1006273
- Hurtado, N. H., & Perez, M. (2014). Identificación, estabilidad y actividad antioxidante de las antocianinas aisladas de la cáscara del fruto de Capulli (*Prunus serotina* spp capuli (Cav) Mc. Vaug Cav). *Informacion*



*Tecnologica*, 25(4), 131–140. <http://doi.org/10.4067/S0718-07642014000400015>

- Hoch WA, Singaas EL, Mccown BH. (2003). Resorption protection. Anthocyanins facilitate nutrient recovery in autumn by shielding leaves from potentially damaging light levels. *Plant Physiol.* 133:1296–305
- Hou DX. (2002). Potential mechanisms of cancer chemoprevention by anthocyanins. *Curr Mol Med.* (2):149.
- Jaakola, L., & Hohtola, A. (2010). Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants, 1239–1247. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02154.x>
- Jaakola L. (2013). New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. *Trends Plant Sci.* 18:477–83
- Jansen, M. A. K., Gaba, V., and Greenberg, B. M. (1998). Higher plants and UVB radiation: Balancing damage, repair and acclimation. *Trends Plant Sci.* 3, 131–135. doi: 10.1016/S1360-1385(98)01215-1
- Jia HF, Chai YM, Li CL, Lu D, Luo JJ, Qin L, et al. (2001). Abscisic acid plays an important role in the regulation of strawberry fruit ripening. *Plant Physiol.* 157:188–99.
- Kadomura-Ishikawa, Y., Miyawaki, K., Noji, S., and Takahashi, A. (2013). Phototropin 2 is involved in blue light-induced anthocyanin accumulation in *Fragaria* and *Ananas* fruits. *J. Plant Res.* 126, 847–857. doi:10.1007/s10265-0130582-2
- Kamiloglu, S., Capanoglu, E., Grootaert, C., & Van Camp, J. (2015). Anthocyanin Absorption and Metabolism by Human Intestinal Caco-2 Cells—A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(9), 21555–21574. <http://doi.org/10.3390/ijms160921555>.
- Kataoka, I., Beppu, K., Sugiyama, A., and Taira, T. (1996). Enhancement of coloration of “Satoh-ni-shiki” sweet cherry fruit by postharvest irradiation with ultraviolet radiation. *Environ. Control Biol.* 34, 313–319. doi: 10.2525/ecb1963.34.313
- Kim, S. A., Ahn, S. Y., Han, H. H., Son, I. C., & Yun, H. K. (2015). Expression of Genes Affecting Skin Coloration and Sugar Accumulation in Apple Fruits at Ripening Stages in High Temperatures. *World Journal of Engineering and Technology*, 3(03), 7
- Koes, R., Verweij, W., and Quattrocchio, F. (2005). Flavonoids: a colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways. *Trends Plant Sci.* 10, 236–242. doi: 10.1016/j.tplants.2005.03.002
- Kondo, S., Tomiyama, H., Rodyoung, A., Okawa, K., Ohara, H., Sugaya, S., et al. (2014). Abscisic acid metabolism and anthocyanin synthesis in grape skin are affected by light emitting diode (LED) irradiation at night. *J. Plant Physiol.* 171, 823–829. doi: 10.1016/j.plph.2014.01.001
- Krga, I., Monfoulet, L., Konic-ristic, A., Mercier, S., Glibetic, M., Morand, C., & Milenkovic, D. (2016). Anthocyanins and their gut metabolites reduce the adhesion of monocyte to TNF  $\alpha$ -activated endothelial cells at physiologically. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1–9. <http://doi.org/10.1016/j.abb.2016.02.006>



- Kusano, M., Tohge, T., Fukushima, A., Kobayashi, M., Hayashi, N., Otsuki, H., Kondou, Y., Goto, H., Kawashima, M., Matsuda, F., Niida, R., Matsui, M., Saito, K., and Fernie, A. R. (2011). Metabolomics reveals comprehensive reprogramming involving two independent metabolic responses of Arabidopsis to UV-B light. *Plant J.* 67, 354–369.
- Kytridis VP, Manetas Y. (2006). Mesophyll versus epidermal anthocyanins as potential in vivo antioxidants: evidence linking the putative antioxidant role to the proximity of oxy-radical source. *J Exp Bot.* 57:2203–10.
- Lepiniec L, Debeaujon I, Routaboul JM, Baudry A, Pourcel L, Nesi N, et al. (2006). Genetics and biochemistry of seed flavonoids. *Annu Rev Plant Biol.* 57(1):405–30.
- Liu, Y., Che, F., Wang, L., Meng, R., Zhang, X., & Zhao, Z. (2013). Fruit coloration and anthocyanin biosynthesis after bag removal in non-red and red apples (*Malus × domestica* Borkh.). *Molecules*, 18(2), 1549–1563. <http://doi.org/10.3390/molecules18021549>
- Li, G., Zhao, J., Qin, B., Yin, Y., An, W., Mu, Z., & Cao, Y. (2019). ABA mediates development-dependent anthocyanin biosynthesis and fruit coloration in *Lycium* plants, 1–13.
- Li YY, Mao K, Zhao C, Zhao XY, Zhang HL, Shu HR, Hao YJ. (2012). MdCOP1 ubiquitin E3 ligases interact with MdMYB1 to regulate light-induced anthocyanin biosynthesis and red fruit coloration in apple. *Plant Physiol.* 160:1011–22.
- Li, W. F., Mao, J., Yang, S. J., Guo, Z. G., Ma, Z. H., Dawuda, M. M., ... Chen, B. H. (2018). Anthocyanin accumulation correlates with hormones in the fruit skin of 'Red Delicious' and its four generation bud sport mutants. *BMC plant biology*, 18(1), 363. doi:10.1186/s12870-018-1595-8
- Liobikas, J., Skemiene, K., Trumbeckaite, S., & Borutaite, V. (2016). Anthocyanins in cardioprotection: a path through mitochondria. *Pharmacological Research*. <http://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.03.036>.
- Lopez, L., Carbone, F., Bianco, L., Giuliano, G., Facella, P., and Perrotta, G. (2012). Tomato plants overexpressing cryptochrome 2 reveal altered expression of energy and stress-related gene products in response to diurnal cues. *Plant Cell Environ.* 35, 994–1012. doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02467.x
- Ma, C., Liang, B., Chang, B., Yan, J., Liu, L., Wang, Y., ... Zhao, Z. (2019). Transcriptome profiling of anthocyanin biosynthesis in the peel of 'Granny Smith' apples (*Malus domestica*) after bag removal. *BMC genomics*, 20(1), 353. doi:10.1186/s12864-019-5730-1
- Ma, C., Jing, C., Chang, B., Yan, J., Liang, B., Liu, L., ... Zhao, Z. (2018). The effect of promoter methylation on MdMYB1 expression determines the level of anthocyanin accumulation in skins of two non-red apple cultivars. *BMC plant biology*, 18(1), 108. doi:10.1186/s12870-018-1320-7
- Ma, C., Liang, B., Chang, B., Liu, L., Yan, J., Yang, Y., & Zhao, Z. (2018). Transcriptome Profiling Reveals Transcriptional Regulation by DNA Methyltransferase Inhibitor 5-Aza-2'-Deoxycytidine Enhancing Red Pigmentation in Bagged "Granny Smith" Apples (*Malus domestica*). *International journal of molecular sciences*, 19(10), 3133.



doi:10.3390/ijms19103133

- Malacarne, G., Costantini, L., Coller, E., Battilana, J., Velasco, R., Vrhovsek, U., ... Moser, C. (2015). Regulation of flavonol content and composition in (Syrah×Pinot Noir) mature grapes: integration of transcriptional profiling and metabolic quantitative trait locus analyses. *Journal of Experimental Botany*, 66(15), 4441–4453. <http://doi.org/10.1093/jxb/erv243>
- Masci, A., Coccia, A., Lendaro, E., Mosca, L., Paolicelli, P., & Cesa, S. (2016). Evaluation of different extraction methods from pomegranate whole fruit or peels and the antioxidant and antiproliferative activity of the polyphenolic fraction. *Food Chemistry*, 202, 59–69. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.106>
- Möglich, A., Yang, X., Ayers, R. A., and Moffat, K. (2010). Structure and function of plant photoreceptors. *Annu. Rev. Plant Biol.* 61, 21–47. doi:10.1146/annurev-arplant-042809-112259
- Moreno-Pérez, E. D. C., Martínez-Damián, M. T., Reyes-López, D., Pérez-Mercado, C. A., Peña-Lomelí, A., & Espinosa-Robles, P. (2006). Intensidad de color y contenido de antocianinas en chile guajillo *Capsicum annum* L. *Revista chapingo. Serie horticultura*, 12(001), 135-140.
- Onik, J. C., Xie, Y., Duan, Y., Hu, X., Wang, Z., & Lin, Q. (2019). UV-C treatment promotes quality of early ripening apple fruit by regulating malate metabolizing genes during postharvest storage. *PLoS one*, 14(4), e0215472. doi:10.1371/journal.pone.0215472
- Peng, T., Saito, T., Honda, C., Ban, Y., Kondo, S., Liu, J. H., et al. (2013). Screening of UV-B-induced genes from apple peels by SSH: possible involvement of MdCOP1-mediated signaling cascade genes in anthocyanin accumulation. *Physiol. Plant.* 148, 432–444. doi: 10.1111/ppl.12002
- Petri, J. L., Hawerth, F. J., Leite, G. B., Couto, M., & Francescato, P. (2012). Apple phenology in subtropical climate conditions. *Phenology and Climate Change*, 195–216. Retrieved from Available from: <http://www.intechopen.com/books/phenology-and-climate-change/apple-phenology-in-subtropical-climate-conditions>.
- Qian, M., Zhang, D., Yue, X., Wang, S., Li, X., and Teng, Y. (2013). Analysis of different pigmentation patterns in “Mantianhong” (*Pyrus pyrifolia* Nakai) and “Cascade” (*Pyrus communis* L.) under bagging treatment and postharvest UV-B/visible irradiation conditions. *Sci. Hortic.* 151, 75–82. doi: 10.1016/j.scienta.2012.12.020
- Rafique MZ, Carvalho E, Stracke R, Palmieri L, Herrera L, Feller A, et al. (2016) Nonsense mutation inside anthocyanidin synthase gene controls pigmentation in yellow raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Front Plant Sci.* 7:1892–904.
- Rizzini, L., Favory, J. J., Cloix, C., Faggionato, D., O'Hara, A., Kaiserli, E., et al. (2011). Perception of UV-B by the Arabidopsis UVR8 protein. *Science* 332, 103–106. doi: 10.1126/science.1200660
- Rivas M, Rojas E, Cortes J, Madronich S 2004. Aumentos de la irradiancia solar ultravioleta debido al efecto altitudinal. Memorias del XIV simposio chileno de física, Antofagasta, Noviembre del 2004.
- Rivas., E, E. R., & Madronich, S. (2008). Solar Ultraviolet Index Increase With Altitude. *Ingeniare. Revista Chilena de Ingeniería*, 16(58), 383–388.



<http://doi.org/10.4067/S0718-33052008000200013>

- Sgherri, C., Scattino, C., Pinzino, C., Tonutti, P., & Ranieri, a. M. (2015). Ultraviolet-B radiation applied to detached peach fruit: A study of free radical generation by EPR spin trapping. *Plant Physiology and Biochemistry*, 96, 124–131. <http://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.07.031>
- Saldívar Iglesias, P. (2017). Cultivo del Manzano (*Malus domestica*).
- Sansavini, S., & Ranalli, P. 2012. Manuale di ortofruitticoltura: Innovazione tecnologiche e prospettive di mercato. Edagricole. Ministero delle politiche agricole Alimentari e forestali.
- Santacruz Cifuentes, L. A. (2011). *Análisis químico de antocianinas en frutos silvestres colombianos* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia).
- Smith, J. L., Burritt, D. J., and Bannister, P. (2000). Shoot dry weight, chlorophyll and UV-B-absorbing compounds as indicators of a plant's sensitivity to UV-B radiation. *Ann. Bot.* 86, 1057–1063. doi: 10.1006/anbo.2000.1270
- Sun, Y., Qian, M., Wu, R., Niu, Q., Teng, Y., and Zhang, D. (2014). Postharvest pigmentation in red Chinese sand pears (*Pyrus pyrifolia* Nakai) in response to optimum light and temperature. *Postharvest Biol. Tec.* 91, 64–71. doi: 10.1016/j.postharvbio.2013.12.015
- Takos, A. M., et al. (2006) "Light-Induced Expression of a MYB Gene Regulates Anthocyanin Biosynthesis in Red Apples." *Plant Physiology*, vol. 142, no. 3, pp. 1216–32, doi:10.1104/pp.106.088104.
- Taylor, C., Wallace, M., Monica. (2014). Anthocyanins in Health and Disease pp. 2-3.
- Taiz, L. & Blac, j. (2006). Fisiología vegetal. Volumen 2. 240pp.
- Takahashi, A., Takeda, K., & Ohnishi, T. (1991). Light-Induced Anthocyanin Reduces the Extent of Damage to DNA in UV-Irradiated *Centaurea cyanus* Cells in Culture, 32(4), 541–547.
- Tian, J., Zhang, J., Han, Z. Y., Song, T. T., Li, J. Y., Wang, Y. R., & Yao, Y. C. (2017). McMYB12 Transcription Factors Co-regulate Proanthocyanidin and Anthocyanin Biosynthesis in *Malus Crabapple*. *Scientific reports*, 7, 43715. doi:10.1038/srep43715
- Trejo-Gonzalez, A., & Soto-Valdez, H. (1991). Partial characterization of polyphenoloxidase extracted from Anna'apple. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 116(4), 672-675.
- Turunen M. & Latola K. (2005) UV-B radiation and acclimation in timberline plants. *Environmental Pollution* 137, 390– 403.
- Van den Ende W & El-Esawe SK.2014. Sucrose signaling pathways leading to fructan and anthocyanin accumulation: a dual function in abiotic and biotic stress responses? *Environ Exp Bot.*108:4–13.
- Van De Staaij, J., De Bakker, N. V., Oosthoek, A., Broekman, R., Van Beem, A., Stroetenga, M., Aerts, R., and Rozema, J. (2002). Flavonoid concentrations in three grass species and a sedge grown in the field and under controlled environment conditions in response to enhanced UVB radiation. *J. Photochem. Photobiol. B* 66, 21–29



- Victor, M., Moo, H., Mariela, I., Raciél, J., Estrada, L, Luis, C., Iván, A., Estrada, E., Ortiz, D., Betancur, E., & Sauri, D. (2015). Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico.
- Vidović, M., Morina, F., Milić, S., Albert, A., Zechmann, B., Tosti, T., ... Jovanović, S. V. (2015). Carbon allocation from source to sink leaf tissue in relation to flavonoid biosynthesis in variegated *Pelargonium zonale* under UV-B radiation and high PAR intensity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 93, 44–55. <http://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.01.008>
- Vilela, A. E., Gonzalez-Paleo, L., & Ravetta, D. A. (2011). Metabolismo secundario de plantas leñosas de zonas áridas: Mecanismos de producción, funciones y posibilidades de aprovechamiento. *Ecología Austral*, 21(3), 317–327.
- Vimolmangkang S, Zheng DM, Han YP, Khan MA, Soria-Guerra RE, Korban SS. (2014). Transcriptome analysis of the exocarp of apple fruit identifies lightinduced genes involved in red color pigmentation. *Gene*;534:78–87
- Wagner, J. R., Brunzelle, J. S., Forest, K. T., and Vierstra, R. D. (2005). A lightsensing knot revealed by the structure of the chromophore-binding domain of phytochrome. *Nature* 438, 325–331. doi: 10.1038/nature04118
- Wei, Hairong, Xin Chen, Xiaojuan Zong, Huairui Shu, and Dongsheng Gao. 2015. "Comparative Transcriptome Analysis of Genes Involved in Anthocyanin Biosynthesis in the Red and Yellow Fruits of Sweet Cherry (*Prunus Avium L.*)." 1–20.
- Wrolstad, R. E.; Heatherbell, D. A.(1974) Identification of anthocyanins and distribution of flavonoids in tamarillo fruit (*Cyphomandra betaceae* Cav. Sendt). *J. Sci. Food. Agric*, 25, 1221-1228.
- Yoshida K., Mori M., Kondo T.(2009). Blue flower color development by anthocyanins: from chemical structure to cell physiology. *Nat. Product. Rep.* 26:884–915
- Yousuf B., Gul K., Wani A.A., Singh P. (2016. )Health benefits of anthocyanins and their encapsulation for potential use in food systems: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 56:2223–2230
- Zhang, P., Wang, Y., Zhang, J., Maddock, S., Snook, M., and Peterson, T. (2003). A maize QTL for silk maysin levels contains duplicated Myb-homologous genes which jointly regulate flavone biosynthesis. *Plant Mol. Biol.* 52, 1–15.
- Zhang, X., Gou, M., Guo, C., Yang, H., & Liu, C.-J. (2015). Down-Regulation of Kelch Domain-Containing F-Box Protein in *Arabidopsis* Enhances the Production of (Poly) phenols and Tolerance to Ultraviolet Radiation. *Plant Physiology*, 167(2), 337–350.
- Zhang HN, Li WC, Wang HC, Shi SY, Shu B, Liu LQ, Wei YZ, Xie JH. (2016). Transcriptome profiling of light-regulated anthocyanin biosynthesis in the pericarp of Litch. *Front Plant Sci.* 7:963.
- Zoratti, L., Jaakola, L., Häggman, H., & Giongo, L. (2015). Modification of sunlight radiation through colored photo-selective nets affects anthocyanin profile in *Vaccinium* spp. berries. *PLoS ONE*, 10(8), 1–17.



<http://doi.org/10.1371/journal.pone.0135935>

Zoratti, L., Karppinen, K., Luengo Escobar, A., Häggman, H., & Jaakola, L. (2014). Light-controlled flavonoid biosynthesis in fruits. *Frontiers in plant science*, 5, 534. doi:10.3389/fpls.2014.00534

## ANEXOS

**Anexo 1** Frutos maduros de manzana “Anna” cosechados a los 120 días de plena floración en Soracá (A), Tuta (A) y Nuevo Colon (C)



**Anexo 2** Tabla de registro del índice ultravioleta (IUV) durante los 30 días de diciembre de 2018 en las 3 zonas de estudio

Mes de Diciembre	IUV SORACÁ	IUV TUTA	IUV N.COLON
1	14,3	13,9	13,6
2	14,8	14,4	13,7
3	15	14,6	13,8
4	15,1	14,7	14,3
5	15,1	14,6	14,3





6	14,8	14,4	13,7
7	14,7	14,3	13,7
8	14,5	14,1	13,6
9	15,2	14,6	14,3
10	13,8	13,4	13,13
11	15	14,6	14,3
12	15,2	14,6	14,2
13	15,1	14,7	14,3
14	14,7	14,3	17,6
15	14,6	14,2	13,7
16	14,9	14,5	13,6
17	14,5	14,1	13,6
18	14,4	14	13,5
19	14,8	14,4	13,7
20	15,1	14,7	14,3
21	15,1	14,6	13,3
22	15,2	14,8	14,4
23	15,1	14,7	14,3
24	15,1	14,7	13,7
25	15,3	14,8	14,4
26	15,2	14,8	14,3
27	15,1	14,7	14,3
28	14,9	14,5	13,6
29	15	14,6	14,2
30	15,1	14,7	14,4
<b>PROMEDIO</b>	<b>14.9</b>	<b>14.4</b>	<b>14.1</b>



**Anexo 3** Tabla de registro de absorbancia, antocianinas totales, °Brix, para repeticiones de cada zona y sus respectivas altitudes y altitudes

Cursor 1 Abs.	Antoc: mg/100g	° BRIX	a.s.n.m			
0,412	23,36	15,8		Soraca		
0,4	22,68	16		Tuta		
0,385	21,83	14,9	2820	Nuevo colon		
0,498	28,24	15,7				
0,538	30,51	16,3				
0,328	18,6	16,7		Longitud de onda	532 nm	
0,312	17,69	15,3		Volumen	1.5 uL	
0,221	12,53	17	2640	referencia espectrofotometro	ND 1000	Thermo Fisher Scientific
0,396	22,46	16				
0,488	27,67	15,8				
0,163	9,24	16,2				
0,028	1,58	15,8	2450			
0,025	1,41	15,3				
0,061	3,45	15,2				
0,027	1,53	14,9				