



**Universidad Autónoma de Querétaro**

**Facultad De Química**

**Aplicación de alternativas tecnológicas, para la inhibición de *Botrytis cinerea* en frutos de zarzamora (*Rubus sp.*) en estado fresco.**

**Tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de  
Maestra en Ciencia y Tecnología de alimentos

**Presenta**

Ing. Vanesa Hernández Martínez

**Dirigido por:**

Dr. Edmundo Mateo Mercado Silva

**Querétaro, Qro. Enero 2023**



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales de  
Información



Aplicación de alternativas tecnológicas, para la  
inhibición de Botrytis cinerea en frutos de zarzamora  
(Rubus sp.) en estado fresco.

**por**

Vanesa Hernández Martínez

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons  
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](#).

**Clave RI:** FQMAC-300236-0223-123



**Universidad Autónoma de Querétaro**  
**Facultad De Química**  
**Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

**Aplicación de alternativas tecnológicas, para la inhibición de  
*Botrytis cinerea* en frutos de zarzamora (*Rubus sp.*) en estado  
fresco.**

**Tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de  
Maestra en Ciencia y Tecnología de alimentos

**Presenta**

Ing. Vanesa Hernández Martínez

**Dirigido por:**

Dr. Edmundo Mateo Mercado Silva

Dr. Edmundo Mateo Mercado Silva  
Presidente

Dr. Gerardo Manuel Nava Morales  
Secretario

Dra. Dulce María Rivera Pastrana  
Vocal

Dr. Ángel Rebollar Alviter  
Suplente

M.C Ángel Ramón Flores Sosa  
Suplente

Centro Universitario, Querétaro , Qro

Enero 2023

México

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por regalarme la oportunidad de haber concluido una etapa más en mi vida, por darme la fuerza, sabiduría y sobre todo salud .

A mi familia por el gran apoyo que me brindó en esta etapa, por sus palabras de aliento para que siguiera adelante y no rendirme en el camino, por sus sabios consejos y por demostrarme que todo puede ser alcanzable y posible cuando uno se lo propone y lucho por ello. En especial a mis padres; porque cada día confiaron y creyeron en mí, por todo su amor y paciencia, porque sentaron las bases de lo que soy y este proyecto también es la culminación de todo su esfuerzo, los amo . A mis hermanos Aideé, José y Ajanthy por sus palabras de aliento que me hacían levantarme cada día y seguir luchando por mi sueño.

Al Dr. Edmundo Mercado , por nunca dudar de mi capacidad, por el apoyo y guía que recibí durante todo este proyecto, por compartir sus amplios conocimientos y experiencias durante este trabajo y darme las bases necesarias para que pudiera concluir con mi investigación.

A los miembros del comité Dr. Nava, Dra. Dulce, Dr. Ángel Rebollar por sus valiosas sugerencias, que contribuyeron al mejoramiento del presente trabajo.

Al M.C Ángel Ramon por la confianza y paciencia que me brindó en este camino, por sus consejos académicos y personales . Por apoyarme en todo monto.

A mis compañeras de Maestría, Paula y Judith, por que hicieron de esta maestría una bonita experiencia, las quiero mucho. Les agradezco por su amistad, por tener siempre los abrazos abiertos para mí en todo momento. Y por todas las mañanas y tarde de bonitos momentos y carcajadas.

A la universidad Autónoma de Querétaro, por permitirme realizar mi maestría .

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por su apoyo brindado durante la maestría.

## ÍNDICE GENERAL

	Pag
ÍNDICE GENERAL.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE CUADROS.....	xiii
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. ANTECEDENTES .....	3
2.1 Evolución de la producción de zarzamora en México y su importancia económica .....	3
2.1.1 Evolución de la producción de zarzamora a nivel mundial .....	3
2.1.1.1 Evolución de la superficie cosechada en el mundo.....	4
2.1.1.2 Principales países productores de zarzamora .....	4
2.1.2 Evolución de la producción y su importancia económica en México .....	5
2.1.2.1 Valor de la producción generado .....	7
2.1.2.2 Principales estados productores de zarzamora .....	9
2.2 Generalidades del cultivo.....	11
2.2.1 Taxonomía.....	11
2.2.2 Hábitos de crecimiento .....	11
2.2.3 Hojas y flores.....	12
2.2.4 Frutos .....	12
2.3 Calidad del fruto de zarzamora.....	13
2.4 Organismos de deterioro de la zarzamora y su control.....	15
2.4.1 Importancia de la enfermedad de moho gris en frutillas. ....	15
2.4.2 Pudrición por <i>Botrytis</i> .....	16
2.4.3 Ciclo de vida de <i>Botrytis cinerea</i> y síntomas de la enfermedad .....	17

2.4.3.1 Etapa asexual.....	17
2.4.3.2 Etapa sexual.....	18
2.4.4 Mecanismo de infección .....	19
2.4.5 Procedimientos de control .....	22
2.4.5.1 Control químico .....	23
2.4.5.2 Control biológico del agente patógeno .....	23
2.4.5.3 Control de patógenos a través de prácticas de manejo del cultivo .....	24
2.4.6 Control poscosecha .....	25
2.4.6.1 Control biológico durante el manejo poscosecha .....	26
2.4.6.2 Envases recubiertos con sorbato de potasio.....	26
2.4.6.3 Atmósferas modificadas activas .....	26
2.4.6.4 Campos de pulsos eléctricos.....	28
2.4.6.5 Usos del Metil jasmonato como elemento señalizador para la respuesta a patógenos.....	29
2.4.6.6 Pulsos de luz .....	30
3. JUSTIFICACIÓN.....	32
4. OBJETIVOS.....	33
4.1 Objetivo general.....	33
4.2 Objetivos específicos.....	33
5. METODOLOGÍA .....	34
5.1 Origen de las muestras.....	34
5.2. Tratamiento de Atmósferas modificadas (AM).....	34
5.2.1 Estrategia experimental.....	34
5.2.2 Tratamiento de atmósferas modificadas activas .....	35

5.3 Aplicación de Metil jasmonato (MeJA).....	36
5.3.1 Estrategia experimental.....	36
5.4 Inoculación de <i>Botrytis cinerea</i> en frutos de zarzamora .....	38
5.5 Evaluación de la incidencia de <i>Botrytis cinerea</i> (IBc) .....	38
5.6 Incidencia de reversión de color (IRC).....	38
5.7 Porcentaje de marchitez (IMCh) .....	39
5.8 Color .....	39
5.9 Firmeza.....	39
5.10 Acidez titulable.....	39
5.11 pH y Solidos solubles totales (°Brix).....	40
5.12 Extracción de compuestos fenólicos y antocianinas.....	40
5.13 Contenido de compuestos fenólicos totales .....	40
5.14 Perfil de compuestos fenólicos por HPLC .....	41
5.15 Contenido de antocianinas .....	42
5.15.1 Contenido de antocianinas por HPLC .....	42
5.15.2 Antocianinas monoméricas .....	43
5.16 Tratamiento de campos eléctricos pulsados (CEP).....	43
5.16.1 Estrategia experimental.....	43
5.16.2 Aplicación de campos eléctricos pulsados .....	44
5.17 Diseño experimental.....	45
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	46
6.1 Experimento de atmósferas modificadas activas.....	46
6.1.1. Cambios en la composición de la atmósfera modificada interna durante el almacenamiento. ....	46

6.1.2 Efecto de las atmósferas modificadas en la incidencia de <i>Botrytis cinerea</i> .....	48
6.1.3 Cambios en la calidad del fruto .....	52
6.1.3.1 Marchitez de frutos.....	52
6.1.3.2 Efectos sobre la firmeza de los frutos .....	54
6.1.3.3 Acidez titulable y sólidos solubles totales.....	56
6.1.3.4 Incidencia de reversión de color.....	59
6.1.3.5 Cambios en el color de los frutos .....	61
6.1.4 Cambios en contenido de antocianinas.....	64
6.2 Efectos de la aspersión de metil jasmonato en poscosecha para el control de <i>Botrytis cinerea</i> .....	67
6.2.1 Efecto del metil jasmonato (MeJA) en la incidencia de <i>Botrytis cinerea</i> .....	67
6.2.2 Cambios en la calidad de los frutos.....	71
6.2.2.1 Cambios en la pérdida de peso.....	72
6.2.2.2 Cambios en la marchitez de los frutos. ....	74
6.2.2.3 Cambios en el color .....	77
6.2.2.4 Efecto sobre la reversión de color.....	79
6.2.2.5 Cambios en la acidez titulable y Contenido de Sólidos Solubles totales .....	81
6.2.2.6 Cambios en la firmeza de los frutos .....	86
6.2.3 Cambios en el contenido de antocianinas monoméricas.....	88
6.2.4 Cambios en el perfil de antocianinas.....	92
6.2.5 Cambios en el contenido de fenoles totales .....	96
6.2.6 Cambios en el perfil de fenoles por HPLC.....	99

6.3 Efectos de la aplicación de la tecnología de Campos eléctricos pulsados en el control de <i>Botrytis cinerea</i> . .....	109
6.3.1 Efectos de los CEP en la incidencia de <i>Botrytis cinerea</i> . .....	110
6.3.2 Cambios en la calidad del fruto. Reversión de color .....	112
7. CONCLUSIONES .....	116
8. BIBLIOGRAFÍA .....	118
9. ANEXO 1 .....	147

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Evolución de la producción de zarzamora a nivel mundial en el periodo 2011-2020. (FAOSTAT, 2020)	.....3
Figura 2	Evolución de la superficie cosechada de zarzamora a nivel mundial en el periodo 2010-2019. (FAOSTAT, 2020).	.....4
Figura 3	Evolución de la producción de zarzamora en México en el periodo 2010-2021. (SIAP, 2021).	.....6
Figura 4	Evolución de la superficie sembrada y cosechada de zarzamora en México en los años 2012-2021. (SIAP, 2021)	.....6
Figura 5	Cambios en los rendimientos (ton/ha) de la producción de zarzamora en México de 2012-2021 (SIAP, 2021).	.....7
Figura 6	Valor generado de la producción anual de zarzamora en México en el periodo 2012-2021. (SIAP, 2021)	.....8
Figura 7	Precios por tonelada de zarzamora producida en México en el periodo 2012-2021. (SIAP,2021)	.....8
Figura 8	Distribución de la producción de zarzamora por estados en el año 2021. (SIAP,2021)	.....9
Figura 9	Flor de zarzamora. Fuente: Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Frutas y Hortalizas de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ).	.....12
Figura 10	Etapas de maduración del fruto de zarzamora. Fuente: Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Frutas y Hortalizas de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ).	.....13
Figura 11	Ciclo biológico de <i>Botrytis</i> . (Agrios,1997)	.....18
Figura 12	Estrategia experimental de la aplicación de atmósferas modificadas. Control negativo (frutas de campo sin desinfectar ni inocular), Control positivo (frutos desinfectados e inoculados), tratamiento de AM (15% CO <sub>2</sub> ). Almacenadas a 10 °C por 12 días.	.....35
Figura 13	Estrategia experimental para la aplicación de MeJA . Control (frutas sin la aplicación de MeJA), Tratamiento 1 o control (frutos asperjados con agua destilada, desinfectados e inoculados). Tratamiento 2 (frutos asperjados con MeJA 50 µmol, desinfectados e inoculados), Tratamiento 3 (frutos de flores asperjadas con MeJA 100 µmol, desinfectados e inoculados). Almacenados por 0, 4 y 8 días a 10 °C.	.....37
Figura 14	Cambios en el contenido de CO <sub>2</sub> en la atmósfera interna de las bolsas de plástico (Foodsaver, Oster) con AM activa (15 % CO <sub>2</sub> + aire) conteniendo clamshells de zarzamora ‘Sultana’ almacenados a 10 °C.	.....47
Figura 15	a) Cambios visuales de la incidencia de <i>Botrytis cinerea</i> en frutos de zarzamora, almacenados por 4-12 días a 10 °C. Control negativo (fruta de campo) A. Control positivo (fruta desinfectada, almacenada en aire)	.....50

B. Tratamiento en AM (desinfección, inoculación y 15 % de CO<sub>2</sub>) C. b) Cambios en la incidencia de *Botrytis cinerea*, durante el almacenamiento a 10 °C, con la aplicación de 15 % de CO<sub>2</sub>+ aire Las barras verticales representan el error estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (p< 0.05).

Figura 16	Efectos de la aplicación de AM (15 % de CO <sub>2</sub> + aire) en la marchitez de frutos de zarzamora almacenados 12 días a 10 ° C. Control negativo (fruta de campo), control positivo (fruta desinfectada, almacenada en aire), tratamiento de AM (desinfección, inoculación y AM 15 % de CO <sub>2</sub> ) . Las barras verticales representan el error estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (p< 0.05) entre los tratamientos.	.....53
Figura 17	Cambios en la firmeza en frutos de zarzamora, almacenados durante 4-12 días a 10 °C , con la aplicación de 15 % de CO <sub>2</sub> . Control negativo (fruta de campo), control positivo (fruta desinfectada, almacenada en aire), tratamiento de AM (desinfección, inoculación y 15 % de CO <sub>2</sub> ) . Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (p< 0.05).	.....56
Figura 18	Incidencia de reversión de color en frutos de zarzamora cv ‘Sultana’ procedente de campo sin tratamiento (Control -); desinfectados e inoculados (Control +) y desinfectados e inoculados y tratados con AM activas (15% CO <sub>2</sub> + aire) almacenados por 0, 4, 8 y 12 días a 10 ° C.	.....59
Figura 19	Porcentaje de frutos con eversión de color en frutos de zarzamora, almacenados durante 12 días a 10 ° C en frutos desinfectados e inoculados y tratados en AM activa (15 % de CO <sub>2</sub> + aire) en comparación con fruta de campo sin desinfectar y sin inocular (Control -) y desinfectadas e inoculadas (Control +). Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (p< 0.05).	.....60
Figura 20	Cambios en el contenido de antocianinas totales en frutos de zarzamora, durante 12 días de almacenamiento a 10 ° C , con la aplicación de 15 % de CO <sub>2</sub> . Control negativo (fruta de campo), control positivo (fruta desinfectada e inoculada y almacenada en aire), tratamiento de AM (desinfección, inoculación y 15 % de CO <sub>2</sub> + aire) . Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (p< 0.05).	.....65
Figura 21	a) Evolución de incidencia de <i>Botrytis cinerea</i> en frutos de zarzamora cv ‘Sultana’, durante 8 días de almacenamiento a 10 °C. Control negativo (fruta de campo) A. Control positivo (fruta desinfectada, MeJA, almacenada en aire) B. Tratamiento de MeJA (desinfección, inoculación, 50 y 100 µmol/L MeJA) C. b) Porcentaje de incidencia de <i>Botrytis cinerea</i> en frutos de zarzamora, durante 8 días de almacenamiento a 10 °C, con la aplicación de 50 y 100 µmol/L MeJA. Las barras verticales representan los errores estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (p< 0.05).	.....70
Figura 22	Cambios en la pérdida de peso de frutos de zarzamora almacenados, 8 días a 10 °C. a) tratamiento con 50 µmol/L MeJA. b) tratamiento con	.....74

	100 $\mu\text{mol/L}$ MeJA. Control negativo (fruta de campo), Control positivo (fruta desinfectada) y tratada con MeJA, almacenada en aire) Las barras verticales representan los errores estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).	
Figura 23	Porcentaje de marchitez en frutos de zarzamora, almacenados 8 días a 10 °C. Control negativo (fruta de campo), Control positivo (fruta desinfectada, MeJA, almacenada en aire) a) tratamiento de 50 $\mu\text{mol/L}$ MeJA. b) tratamiento de 100 $\mu\text{mol/L}$ MeJA. Las barras verticales representan los errores estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).	.....77
Figura 24	Cambios en el porcentaje de reversión de color en frutos de zarzamora cv “, durante 8 días de almacenamiento a 10 °C. Control negativo (fruta de campo), Control positivo (fruta desinfectada, almacenada en aire) a) tratamiento de 50 $\mu\text{mol/L}$ MeJA. b) tratamiento de 100 $\mu\text{mol/L}$ MeJA. Las barras verticales representan los errores estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).	.....81
Figura 25	Cambios en la acidez titulable (A) y en el contenido de sólidos solubles totales (B) de frutos de zarzamora cv “almacenados durante 8 días a 10 °C. Control negativo (fruta de campo), Control positivo (fruta desinfectada, almacenada en aire) a) tratamiento con 50 $\mu\text{M/L}$ de MeJA. b) tratamiento con 100 $\mu\text{M/L}$ de MeJA. Las barras verticales representan los errores estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).	.....85
Figura 26	Cambios en la firmeza de frutos de zarzamora cv ‘Sultana’, almacenados 8 días a 10 °C. a) tratamiento de 50 $\mu\text{M/L}$ de MeJA. b) tratamiento de 100 $\mu\text{M/L}$ de MeJA. Control negativo (fruta de campo), Control positivo (fruta desinfectada, almacenada en aire) Las barras verticales representan los errores estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).	.....88
Figura 27	Cambios en el contenido de Antocianinas monoméricas en frutos de zarzamora cv ‘Sultana’, almacenados 8 días a 10 °C. Control negativo (fruta de campo), Control positivo (fruta desinfectada, almacenada en aire) a) tratamiento de 50 $\mu\text{M/L}$ MeJA . b) tratamiento de 50 $\mu\text{M/L}$ MeJA. Las barras verticales representan los errores estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).	.....91
Figura 28	Perfiles cromatográficos representativo de antocianinas en frutos de zarzamora cv ‘Sultana’, almacenados por 0, 4 y 8 días a 10 °C . A. Control negativo (frutos de campo), B. Control positivo (frutos desinfectados + MeJA) C. tratamiento 50 $\mu\text{mol/L}$ MeJA.	.....93

Figura 29	Perfiles cromatográficos representativo de antocianinas en frutos de zarzamora cv 'Sultana', almacenados por 0, 4 y 8 días a 10 °C . A. Control negativo (frutos de campo), B. Control positivo (frutos desinfectados + MeJA) C. tratamiento 100 µmol/L MeJA.	.....94
Figura 30	Cambios en el contenido de fenoles totales en frutos de zarzamora, almacenados 8 días a 10 °C. Control negativo (fruta de campo), Control positivo (fruta desinfectada, almacenada en aire) a) tratamiento de 50 µmol/L MeJA. b) tratamiento de 100 µmol/L MeJA. Las barras verticales representan los errores estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (p< 0.05).	.....98
Figura 31	Cromatogramas representativos del perfil de compuestos fenólicos en frutos de zarzamora cv 'Sultana', almacenados 8 días a 10 °C. A) Dia 0, B) Dia 4 C) Dia 8. Control – (Frutos de campo), Control + (frutos desinfectados + MeJA), Tratamiento MeJA (50 µmol/L)	.....100
Figura 32	Figura 32. Cromatogramas representativos del perfil de compuestos fenólicos en frutos de zarzamora cv 'Sultana', almacenados 8 días a 10 °C. A) Dia 0, B) Dia 4 C) Dia 8. Control – (Frutos de campo), Control + (frutos desinfectados + MeJA), Tratamiento MeJA (100 µmol/L).	.....105
Figura 33	Porcentaje de incidencia de <i>Botrytis cinerea</i> en frutos de zarzamora cv 'Sultana', almacenados durante 4 días a 21 ° C , después de la aplicación de 100 pulsos de campos eléctricos pulsados por 500 µs c/u. T1, T2 y T3 frutos sometidos a 10 000, 7 500 y 5 000 volts y 2.5 cm de distancia de electrodos; T4 y T5 frutos sometidos a 10 000 volts con distancia entre los electrodos de 10 cm y tiempos de aplicación de 500 µs. Las barras verticales representan los errores estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (P< 0.05).	.....112
Figura 34	Incidencia de reversión de color en frutos de zarzamora cv 'Sultana', después de 5 horas de ser tratados por diferentes campos eléctricos pulsados y almacenados 2 días de a 21 ° C.	.....113
Figura 35	Curva estándar de ácido gálico para la determinación de fenoles	.....147

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Principales países productores de zarzamora en el año 2011 y 2020. (FAOSTAT, 2020)	.....5
Cuadro 2.	Principales estados productores de zarzamora. (SIAP, 2021)	.....10
Cuadro 3.	Gradiente de concentración de la fase móvil para la separación e identificación de ácidos fenólicos y flavonoides por HPLC. (A) agua destilada acidulada con ácido fórmico 0.2% y (B) acetonitrilo 100%	.....42
Cuadro 4.	Condiciones de operación del equipo de campos eléctricos pulsados para cada uno de los cinco tratamientos (T1-T5).	.....44
Cuadro 5.	Comparación general de medias de acidez titulable (AT) y ° Bx en frutos de zarzamora, almacenados de 4-12 días a 10 ° C. con la aplicación de AM (desinfección, inoculación y 15 % de CO <sub>2</sub> ), Control negativo (fruta de campo), control positivo (fruta desinfectada, almacenada en aire). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p< 0.05).	.....58
Cuadro 6.	Valores de probabilidad o significancia estadística del análisis de varianza de los parámetros de color de muestras de zarzamora sometidas a AM comparada con los controles en diferentes días de almacenamiento a 10 °C.	.....62
Cuadro 7.	Comparación estadística de medias de los efectos de los factores Día, Tratamiento y la interacción día*tratamiento en los valores de color b* y L* de zarzamora almacenada por 0, 4, 8 y 12 días a 10 °C. Sin desinfección ni inoculación (Cont -), desinfectadas e inoculadas (Cont +) y tratadas en AM activa con aire+15 %CO <sub>2</sub> (AM) (Tukey p<0.05).	.....63
Cuadro 8.	Comparación de medias de los efectos del periodo de almacenamiento, los tratamientos aplicados y la interacción tratamiento*día en el contenido de antocianinas de zarzamora cv 'Sultana' durante su almacenamiento a 10 °C.	.....65
Cuadro 9.	Pruebas de significancia estadística de los efectos de los diferentes factores y sus interacciones en la incidencia de <i>Botrytis cinerea</i> en frutos de zarzamora cv 'Sultana' almacenados por 0, 4 y 8 días a 10 °C	.....68
Cuadro 10.	Comparación de medias de la incidencia de <i>Botrytis cinerea</i> en frutos de zarzamora cv 'Sultana'	.....68
Cuadro 11.	Análisis de varianza de los efectos de la aplicación de MeJA, el periodo de almacenamiento y sus respectivas interacciones en la pérdida de peso de frutos de zarzamora cv 'Sultana' almacenada a 10 °C.	.....72

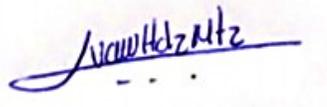
Cuadro 12.	Comparación general de medias de la interacción tratamiento*día de almacenamiento del efecto de la aplicación de MeJA en frutos de zarzamora cv 'Sultana' almacenada durante 0, 4 y 8 días a 10 °C.	.....73
Cuadro 13.	Análisis de varianza general de los efectos de los tratamientos y de la aplicación de 50 y 100 µM de MeJA en la marchitez de los frutos de zarzamora cv 'Sultana' almacenados por 0, 4 y 8 días a 10 °C.	.....75
Cuadro 14.	Comparación de medias de los valores de marchitez de frutos de zarzamora cv 'Sultana' procedentes de campo (control-), desinfectados (control+) y tratados con 50 y 100 µM de MeJA y almacenados hasta por 8 días a 10 °C	.....76
Cuadro 15.	Comparación de medias de los valores de color de la interacción tratamiento*Conc de MeJA*día de almacenamiento en frutos de zarzamora tratados en poscosecha con 50 y 100 µM de MeJA almacenados por 0, 4 y 8 días a 10 °C. Comparación con frutos de campo (Cont -) y con frutos desinfectados (Cont +)	.....78
Cuadro 16.	Análisis de varianza general de los efectos de la aplicación de 50 y 100 µM de MeJA en la reversión de color de frutos de zarzamora cv 'Sultana' almacenada por 0, 4 y 8 días a 10 °C	.....79
Cuadro 17.	Comparación de medias de la reversión de color de frutos de zarzamora cv 'Sultana' tratadas con 50 y 100 µM de MeJA almacenada durante 0, 4 y 8 días a 10 °C.	.....80
Cuadro 18.	Análisis de varianza de los efectos de la aplicación de 50 y 100 µM de MeJA en el contenido de sólidos solubles totales (SST), la acidez titulable y la relación SST/Acidez en frutos de zarzamora cv " almacenados por 0, 4 y 8 días a 10 °C	.....82
Cuadro 19.	Comparación de medias de los valores de SST, Acidez titulable y la relación SST/Acidez de frutos de zarzamora cv " tratados con 50 y 100mM de MeJA y almacenados por 0,4 y 8 días a 10 °C.	.....83
Cuadro 20.	Pruebas de significancia estadística de los efectos de los diferentes factores y sus interacciones en la firmeza de los frutos de zarzamora cv 'Sultana'.	.....86
Cuadro 21.	Comparación de medias (Tukey p<0.05) de la firmeza en frutos de zarzamora del control -, control +y desinfectados e inoculados y tratados con 50 y 100 µM de MeJA.	.....87
Cuadro 22.	Pruebas de significancia estadística de los efectos de los diferentes factores y sus interacciones en el contenido de antocianinas monoméricas de los frutos de zarzamora cv 'Sultana'.	.....89

Cuadro 23.	Comparación de medias de los contenidos de antocianinas monoméricas de frutos de zarzamora cv 'Sultana' de campo (Control -), desinfectados (Control +) y tratados con 50 o 100 $\mu\text{M}$ de MeJA/L.	.....90
Cuadro 24.	Identificación de la antocianina del pico # 1 de frutos de zarzamora cv 'Sultana', almacenados 8 días a 10 °C. Control negativo (fruta de campo), control positivo (desinfección, MeJA), y tratados con 50 $\mu\text{M}$ de MeJA.	.....95
Cuadro 25.	Identificación de la antocianina del pico # 1 de frutos de zarzamora cv 'Sultana', almacenados 8 días a 10 °C. Control negativo (fruta de campo), control positivo (desinfección, MeJA), y tratados con 100 $\mu\text{M}$ de MeJA.	.....95
Cuadro 26.	Significancia estadística de los efectos de los tratamientos, las aplicaciones de MeJA y los días de almacenamiento en el contenido de fenoles totales de frutos de zarzamora cv 'Sultana' almacenados por 0, 4 y 8 días a 10 °C.	.....97
Cuadro 27.	La comparación de medias de los contenidos de fenoles en todo el experimento permite visualizar este comportamiento.	.....97
Cuadro 28.	Principales fenoles identificados en frutos de zarzamora, almacenados a 10 °C por 8 días. Control negativo (fruta de campo), control positivo (desinfección, MeJA), tratamiento de MeJA (50 $\mu\text{mol/L}$ ).	.....101
Cuadro 29.	Comparación de áreas de los compuestos identificados en el perfil fenólico de tratamiento 50 $\mu\text{M}$ MeJA.	.....103
Cuadro 30.	Principales fenoles identificados en frutos de zarzamora, almacenados a 10 °C por 8 días. Control negativo (fruta de campo), control positivo (desinfección, MeJA), tratamiento de MeJA (100 $\mu\text{mol/L}$ ).	.....106
Cuadro 31.	Comparación de áreas de los compuestos identificados en el perfil fenólico de tratamiento 100 $\mu\text{M}$ MeJA.	.....108
Cuadro 32.	Análisis de varianza general del % de inhibición del crecimiento de <i>Botrytis cinerea</i> de los tratamientos de CEP en frutos de zarzamora cv 'Sultana' almacenados 4 días a 21 °C.	.....110

## **DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DEL ESTUDIANTE:**

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

A handwritten signature in blue ink, reading "Vanesa Hernández Martínez", with a horizontal line underneath. There are three small dots below the line.

**Vanesa Hernández Martínez**

## RESUMEN

En el 2021, México fue el principal productor (211357 ton) y exportador de zarzamora (95%) en el mundo, gracias al uso de sistemas protegidos de producción en macro túnel que permite tener altos rendimientos (23 ton/ha). La calidad comercial del fruto está regulada por la apariencia como ausencia de defectos y pudriciones, además del tamaño, color característico y una buena firmeza. La presencia de hongos como *Botrytis cinerea* causante de la pudrición gris es un factor crítico de calidad y rechazo en los puntos de inspección de los mercados de destino y a nivel de consumidor generando pérdidas económicas en la cadena de comercialización. Los procedimientos pre cosecha para el control de este patógeno es la aplicación de fungicidas. No obstante, esto ha generado resistencia del hongo a los fungicidas, como consecuencia esto ha llevado a un incremento en la concentración y el número de aplicaciones durante el ciclo de cultivo, resultando en problemas ecológicos y de control en la producción. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficacia de tres diferentes procedimientos tecnológicos pos cosecha para inhibir el desarrollo de *Botrytis cinerea*, que permitan ampliar la vida poscosecha. Muestras de zarzamorras empacadas en *clamshell* de 6 oz fueron sometidas a un diseño experimental de tres tratamientos aleatorizado con tres réplicas de cada uno; T1, atmósferas modificadas activas (AM) (aire+15 % CO<sub>2</sub>), T2, Aspersión de metil jasmonato 50 y 100 µmol/L y evaluación de eficacia durante 12 días a 10 °C y T3 campos eléctricos pulsados (PEF) de 7.5 y 10 kV por 500 µs y evaluación de eficacia durante 4 días a 10 °C. Las variables respuesta evaluadas fueron: incidencia del moho gris, color, firmeza, pérdida fisiológica de peso, contenido de antocianinas y fenoles totales, perfiles de antocianinas y de compuestos fenólicos, acidez titulable, sólidos solubles totales y pH. La aplicación de AM por 4 días a 10 °C evitó la incidencia de *Botrytis cinerea* en comparación al 20-35 % mostrado por los grupos control y es una alternativa viable para su control potenciando su beneficio con aplicaciones a temperatura óptima de conservación del fruto (1 °C). La aplicación de 50 y 100 µM de MeJA redujo de manera significativa (hasta 4.6 %) la incidencia del hongo después de 4 días de almacenamiento a 10 °C en comparación al 80 % mostrado por los controles. La aplicación de campos eléctricos pulsados de 7.5 a 10 kV en 100 pulsos por segundo y con una duración de 500 µs permitieron una inhibición de hasta el 80 % del desarrollo de *Botrytis cinerea* no obstante, esta tecnología incrementó la reversión de color del fruto. Se discuten los efectos de las aplicaciones tecnológicas en la calidad de los frutos y su viabilidad de aplicación comercial.

### Palabras claves

zarzamora (*Rubus sp.*), *Botrytis cinerea*, inhibición, calidad. tecnologías alternativas.

## SUMMARY

In 2021, Mexico was the main producer (211,357 tons) and exporter of blackberries (95%) in the world, thanks to the use of protected macro-tunnel production systems that allow high yields (23 tons/ha). The fruit commercial quality is regulated by appearance factors, such as the absence of defects and rot, as well as size, characteristic color and good firmness. The presence of fungi such as *Botrytis cinerea* or gray rot is a critical factor of quality and rejection on inspection points of destination markets and at the consumer level, generating economic losses in the marketing chain. The pre-harvest procedures for the control of this pathogen are the application of fungicides. However, this has generated fungus resistance to fungicides, inducing the producer to use higher concentrations of the compounds and to increase the applications number during the crop cycle, causing ecological problems and less production control. The objective of this work was to evaluate the efficacy of three different post-harvest technological procedures to inhibit the development of *Botrytis cinerea* in blackberry fruit, which allow extending their postharvest life. Samples of blackberries packed in 6 oz clamshells were subjected to an experimental design of three randomized treatments with three replicates of each one; T1, active modified atmospheres MA (air+15% CO<sub>2</sub>), T2, 50 and 100 µmol/L methyl jasmonate spray and efficacy evaluation for 12 days at 10 °C and T3, pulsed electric fields (PEF) of 7.5 and 10 kV per 500 µs and efficacy evaluation for 4 days at 10 °C. The response variables evaluated were: *Botrytis cinerea* incidence, color, firmness, physiological weight loss, anthocyanin and total phenolics content, profiles of anthocyanins and phenolics compounds, titratable acidity, total soluble solids, and pH. The application of MA for 4 days at 10 °C prevented the incidence of *Botrytis cinerea* in comparison to 20-35% shown by control groups and this is a viable alternative to control the fungus development, enhancing its benefit with applications at optimal temperature for fruit conservation (1 °C). The application of 50 and 100 µM of MeJA significantly reduced (up to 4.6 %) the fungus incidence after 4 days of storage at 10 °C in comparison to 80 % shown by the controls. The application of pulsed electric fields of 7.5 at 10 kV in 100 pulses per second and 500 µs, allowed to inhibit up to 80 % the development of *Botrytis cinerea*; however, this technology increased the red color reversion of the fruit. The effects of these technological applications on fruit quality and their commercial viability are discussed.

### Key words

Blackberry (*Rubus* sp.), *Botrytis cinerea*, inhibition, quality, alternative technologies.

## 1. INTRODUCCIÓN

En los últimos 10 años México se ha colocado como el principal productor y exportador de zarzamora a nivel mundial. A partir del 2016 el incremento por año ha sido pronunciado, esto se atribuye al aumento en la superficie destinada para este cultivo y al uso de técnicas de cultivo protegido en macro túneles. La mayor parte de la producción del fruto de zarzamora se canaliza a los mercados de exportación siendo los Estados Unidos el principal mercado de destino; en este mercado de exportación se exigen altos estándares de calidad que el fruto debe cumplir para que se permita su comercialización (FAOSTAT, 2020).

La calidad comercial de la zarzamora está regida principalmente por los factores de apariencia que incluyen el color, ausencia de pudriciones, ausencia de defectos, forma y tamaño de los frutos. A estos factores le siguen los factores de firmeza y sabor de los frutos (USDA, 2016) y libres de microorganismos involucrados en riesgos en la salud del consumidor. La presencia de pudriciones es un factor de calidad crítico que involucra el rechazo de las cargas exportadas en los mercados de destino (Zhang *et al.*, 2016). Por ello las actividades de producción y empaque se enfocan de manera sustancial al control del desarrollo de estas enfermedades durante todo el ciclo de producción y el manejo poscosecha de los frutos. La pudrición de zarzamora es causada principalmente por el hongo, *Botrytis cinerea* que inicia su proceso de infección desde la etapa de precosecha, particularmente en la floración, y se manifiesta durante el almacenamiento y comercialización del fruto (Viret *et al.*, 2004).

Por este motivo, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de diferentes tratamientos tecnológicos para reducir la incidencia del hongo *Botrytis cinerea*. Las tecnologías poscosecha seleccionadas fueron las atmósferas modificadas, la aplicación de campos eléctricos pulsados y la aplicación de moléculas de señalización naturales que induzcan una mejor respuesta del fruto hacia el deteriorador.

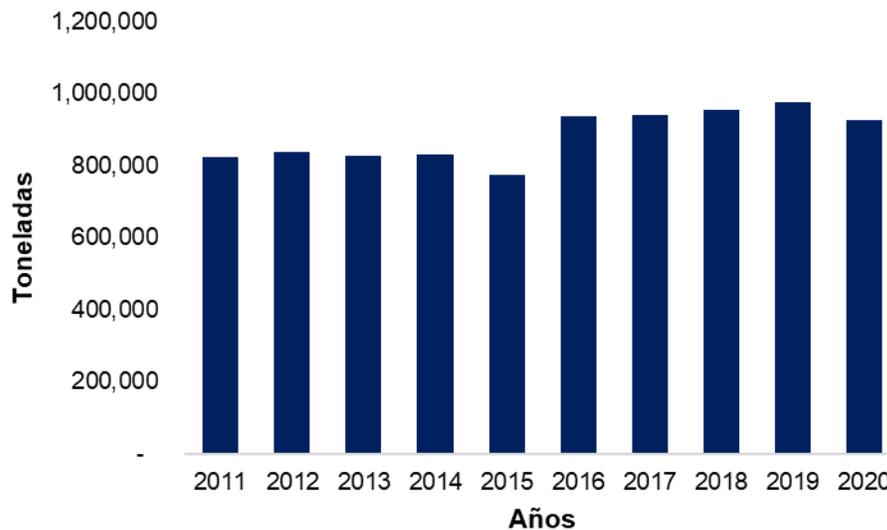
Estas tecnologías tienen la ventaja que no hacen uso de fungicidas y podrían representar alternativas de control efectivas y sustentables en la comercialización de zarzamora.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Evolución de la producción de zarzamora en México y su importancia económica

#### 2.1.1 Evolución de la producción de zarzamora a nivel mundial

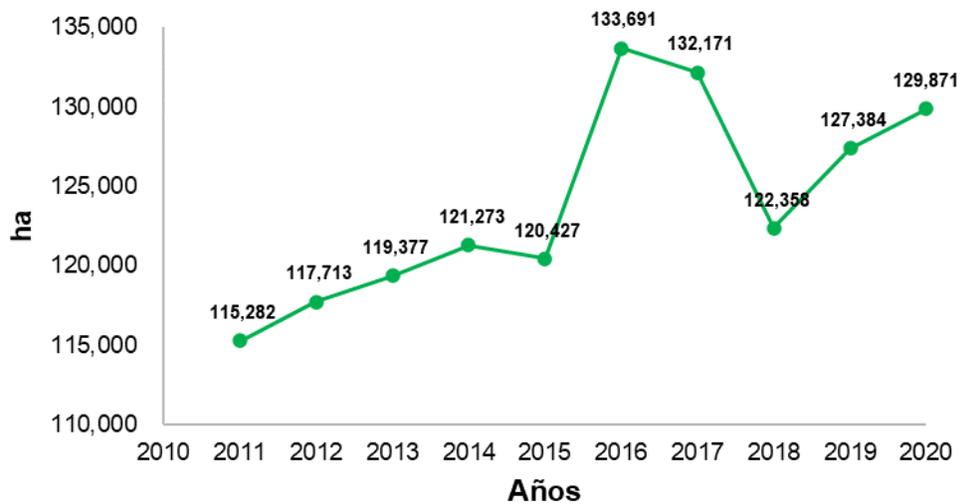
Las estadísticas para la producción de alimentos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAOSTAT, 2020) muestran una tendencia al alza en la producción de zarzamora a nivel mundial en los últimos 10 años; registrándose en el año 2011 una producción de 823,551 ton y 927,344 ton en el 2020; un incremento de 103,793 ton que representaron un aumento del 11 % respecto del año 2011 (FAOSTAT, 2020) (Figura 1). El incremento de esta producción se puede deber a mayores superficies sembradas o mejoras tecnológicas en el cultivo.



**Figura 1.** Evolución de la producción de zarzamora a nivel mundial en el periodo 2011-2020. (FAOSTAT, 2020)

### 2.1.1.1 Evolución de la superficie cosechada en el mundo

La Figura 2 muestra la evolución de la superficie cosechada a nivel mundial en los últimos 10 años; en el año 2011 se registró una superficie de 115,282 ha, y en el 2020 se registraron 129,871 ha, es decir un incremento del 11.23 % de la superficie registrada para el 2011 (Figura 2) (FAOSTAT, 2020). Estos datos señalan que el incremento en la superficie cosechada explica completamente el incremento en la producción y que dentro de ese periodo se han realizado mejoras tecnológicas en la producción.



**Figura 2.** Evolución de la superficie cosechada de zarzamora a nivel mundial en el periodo 2010-2019. (FAOSTAT, 2020).

### 2.1.1.2 Principales países productores de zarzamora

La distribución de la producción de zarzamora a nivel mundial abarca muchos países, aunque diez de ellos aportan el 85 % de la producción mundial (Cuadro 1). Para el año 2011, los cinco principales países que aportaron el mayor volumen de producción fueron Vietnam, México, Papua Nueva Guinea, Turquía e Italia. México en el año 2011 aportó 135,563 ton que representaron el 16.4 % de la producción de ese año; mientras que, en el 2020, México se colocó como el principal productor a nivel mundial con 215,923.73ton con lo que aportó el 20.1 % de la producción mundial (FAOSTAT, 2020). De acuerdo con esta fuente de información, México incrementó su producción en 51,882 ton en ese periodo que represento un

incremento del 27.6 % de la producción registrada para el 2011 (Cuadro 1) (FAOSTAT, 2020).

**Cuadro 1.** Principales países productores de zarzamora en el año 2011 y 2020. (FAOSTAT, 2020)

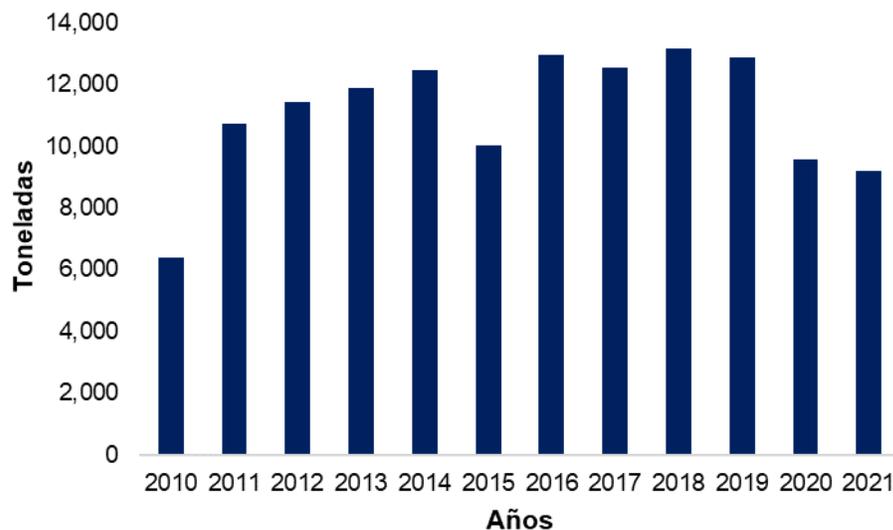
Año	Orden	País	Producción (ton)	Año	Orden	País	Producción (ton)
2011	1	Viet Nam	143,807	2020	1	México	215,924
	2	México	135,563		2	Viet Nam	122,681
	3	Papua Nueva Guinea	105,000		3	Paupa Nueva Guinea	109,409
	4	Turquía	76,643		4	Polonia	84,780
	5	Italia	70,967		5	Turquía	79,863
	6	Polonia	50,578		6	China, Continental	56,503
	7	China, Continental	50,497		7	Azerbaiyán	30,995
	8	Afganistán	27,639		8	Afganistán	27,772
	9	Estados Unidos de América	26,514		9	Estados unidos de America	27,735
	10	Bangladesh	14,447		10	Bangladesh	26,501

### 2.1.2 Evolución de la producción y su importancia económica en México

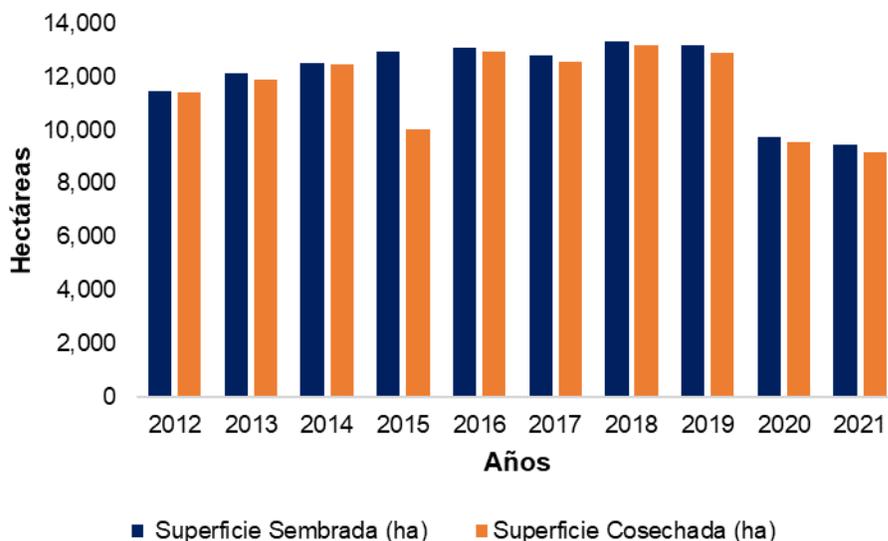
Los datos del SIAP (2021) confirman los datos comentados anteriormente; en los últimos diez años se registró un incremento en la producción; en el año 2012 se reportó una producción de 139,803 ton, mientras que en el 2021 se registraron 211,357 ton, que representó un incremento del 33.85 % respecto del año 2012 (Figura 3) (SIAP, 2021).

La evolución de la producción nacional (Figura 3), muestra que los incrementos más importantes de producción se registraron en el periodo 2016 y 2019. Con el objeto de entender si los incrementos de producción son debido a incrementos en la superficie cosechada, se realiza una comparación de la superficie sembrada y

cosechada en el periodo de 2012- 2021 (Figura 4); se observa que en el periodo 2016 – 2019 la superficie cosechada mostró un incremento drástico como lo mostró la producción.

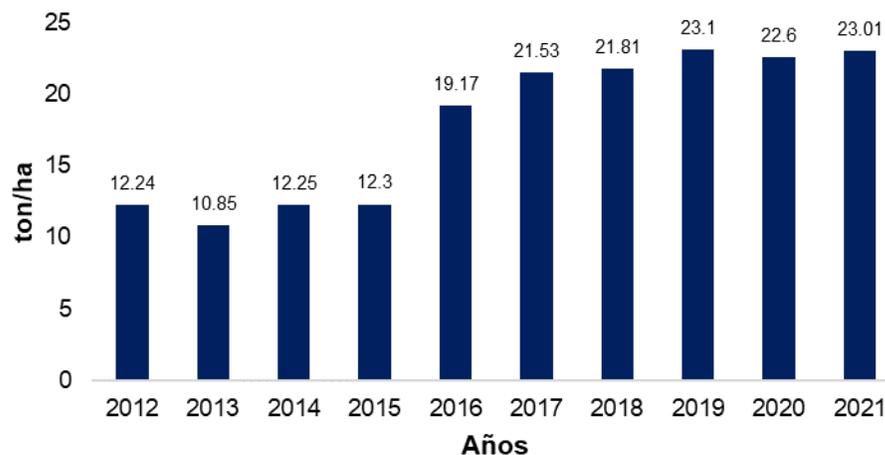


**Figura 3.** Evolución de la producción de zarzamora en México en el periodo 2010-2021 (SIAP, 2021).



**Figura 4.** Evolución de la superficie sembrada y cosechada de zarzamora en México en los años 2012-2021 (SIAP, 2021)

Esto señala que la producción se incrementó por mejoras en otros procesos de la producción que incrementaron los rendimientos por hectárea. Con los datos de rendimientos por hectárea proporcionados por el SIAP (2021) se construyó la figura 5. Se observa que durante el periodo 2016-2021 también se registraron incrementos notables en los rendimientos lo cual explica los incrementos en la producción. Estos incrementos en los rendimientos deben estar explicados por la implementación de nuevas tecnologías, como es el uso generalizado de macro túneles que brindan al cultivo un mejor control y mejoramiento del factor edafoclimático, y un mejor control de plagas y enfermedades (Heidenreich *et al.*, 2012), así como la liberación de nuevas variedades de los programas de mejoramiento de la industria de berries.

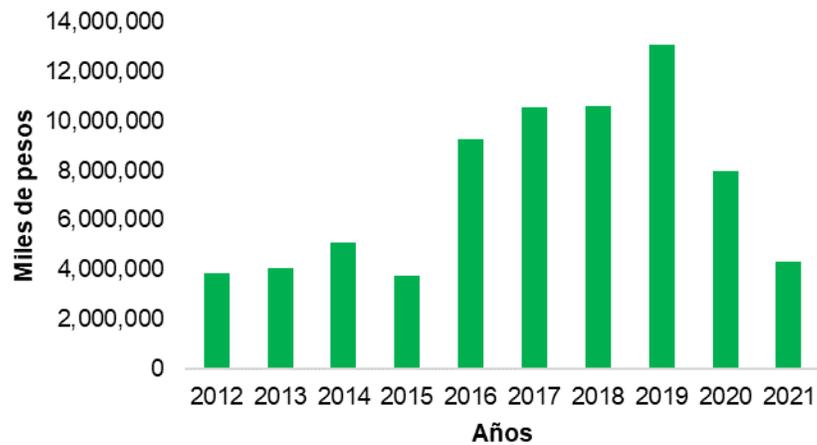


**Figura 5.** Cambios en los rendimientos (ton/ha) de la producción de zarzamora en México de 2012-2021 (SIAP, 2021).

#### 2.1.2.1 Valor de la producción generado

Desde el punto de vista de la rentabilidad de las operaciones de la producción, en los últimos 10 años el valor generado tuvo un incremento de 9,198,459 millones de pesos (SIAP, 2021) hasta el 2019 que representaron un incremento del 15.25 % en el valor generado respecto de lo reportado en el 2010 (Figura 6). Este incremento señala la importancia económica que ha representado la producción y comercialización de esta fruta. Analizando los precios por tonelada producida en el mismo periodo de producción, también hubo un incremento hasta el 2019 de 1.58

veces en los precios pasando de \$ 27,681.00 a \$ 43,850.00 de pesos/ton (Figura 7). Estos datos muestran que este sector agrícola mantiene una dinámica de crecimiento económica alta que también explica el incremento en la producción (SIAP,2021). No obstante, es importante señalar que los incrementos en la producción y rendimientos han sido más notables que los incrementos registrados en los precios por tonelada. Esto puede señalar posibles competencias en el mercado que limitan los incrementos de precios.



**Figura 6.** Valor generado de la producción anual de zarzamora en México en el periodo 2012-2021 (SIAP, 2021)

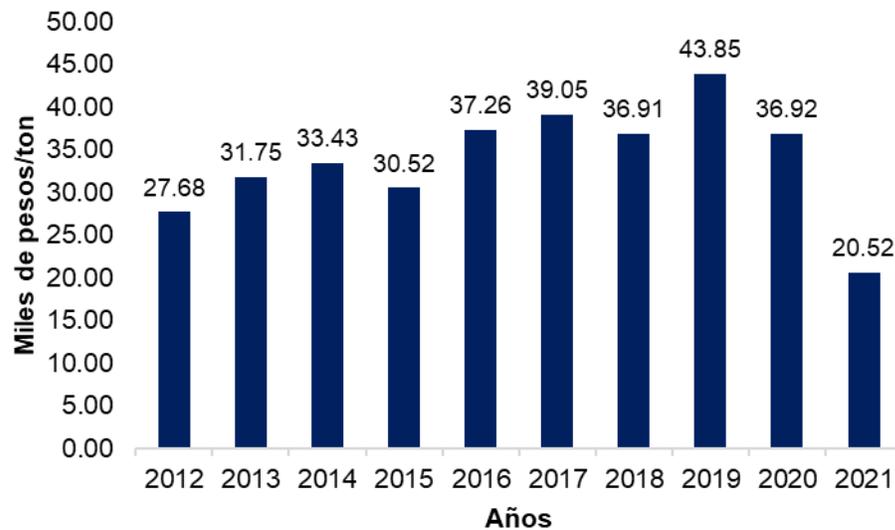


Figura 7. Precios por tonelada de zarzamora producida en México en el periodo 2012-2021. (SIAP,2021)

### 2.1.2.2 Principales estados productores de zarzamora

La producción de zarzamora en México la domina el estado de Michoacán quien aporta el 93.00 % de la producción (Cuadro 2), específicamente en los municipios de Los Reyes donde se obtiene el 60% de la producción estatal. El estado de Jalisco aporta el 5.32 %, Colima el 0.71 %, Baja California el 0.41%, Puebla el 0.24 %; mientras que Guanajuato, el estado de México, Morelos, Querétaro y Ciudad de México aportaron en conjunto el 0.28 % de la producción del año 2021 (Figura 8) (SIAP,2021).



**Figura 8.** Distribución de la producción de zarzamora por estados en el año 2021. (SIAP,2021)

Los estados de Michoacán, Jalisco y Colima han mostrado el mayor incremento de producción en los últimos 10 años (Cuadro 2); Michoacán incrementó su producción 45.96 %, Jalisco 189.45 % y Colima 63.54 % (SIAP, 2021).

**Cuadro 2.** Principales estados productores de zarzamora. (SIAP, 2021)

Año	Orden	Estado	Producción	Año	Orden	Estado	Producción (ton)
<b>2012</b>	1	Michoacan	134,708.16	<b>2021</b>	1	Michoacán	196,626.62
	2	Jalisco	3,882.60		2	Jalisco	11,238.31
	3	Colima	915.00		3	Colima	1,496.43
	4	Mexico	81.05		4	Baja California	873.24
	5	Queretaro	68.00		5	Puebla	509.70
	6	Nayarit	43.08		6	Guanajuato	289.65
	7	Veracruz	36.00		7	México	232.76
	8	Puebla	24.00		8	Morelos	38.50
	9	Morelos	23.00		9	Querétaro	18.00
	10	Ciudad de México	19.90		10	Ciudad de Mexico	17.68

Los datos anteriores señalan que México está colocado como el principal productor y exportador de zarzamora a nivel mundial que le está aportando beneficios económicos y laborales en la operación. No obstante, para mantener esa posición, la calidad de la producción debe cumplir con las expectativas del mercado de consumo y satisfacer los estándares de calidad y vida de anaquel de la fruta.

Para ello, las empresas dedicadas a esta actividad deben de contar con tecnologías y prácticas de cultivo y manejo del fruto que eviten o controlen los factores responsables del deterioro durante el proceso de comercialización y consumo como la presencia de defectos o de fruta podrida. Dado que la zarzamora es altamente perecedera y el uso de agentes desinfectantes en solución puede afectar la calidad de la fruta; es importante contar con sistemas que controlen la presencia de microorganismos deterioradores (hongos y bacterias) cuyo desarrollo en el proceso

de comercialización implicaría un rechazo en el mercado y pérdidas económicas para las empresas involucradas.

## **2.2 Generalidades del cultivo**

### **2.2.1 Taxonomía**

De acuerdo con Finn (2008), la zarzamora se clasifica taxonómicamente de la siguiente manera:

- Reino: Plantae
- Subreino: Tracheobionta
- Siperdivision: Spermatophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Subclase: Rosidae
- Orden: Rosales
- Familia: Rosaceae
- Género: Rubus spp.
- Subgénero: Eubatus

### **2.2.2 Hábitos de crecimiento**

La planta de la zarzamora tiene distintos hábitos de crecimiento como erecto, semierecto, postrado, ausencia y presencia de espinas (Muratall-Lúa *et al.*, 2013). El arbusto posee tallo arqueado que crece hasta 3 metros a un ritmo acelerado. Son perennes debido a que sus cañas bianuales se superponen en edad con una duración de tres o más estaciones (Hummer and Janick, 2006). La corteza de los retoños en la mayoría de los casos se encuentra cubierta de espinas más o menos rígidas según el cultivar por ejemplo la variedad “Tupy” posee espinas. Sin embargo, existen variedades de corteza sin espinas (Zia-UI-Haq *et al.*, 2014).

### 2.2.3 Hojas y flores

Las hojas son estipuladas y compuestas con 3 o 5 foliolos. Cada foliolo es elíptico, de diversas dimensiones de acuerdo con la variedad, aserrado en los bordes y dispuestos de forma palmeada. El envés de la hoja es grisáceo y aterciopelado, las nervaduras suelen estar muy marcadas. Las flores son hermafroditas y auto fértiles, por lo que el cultivo no requiere fauna auxiliar para la polinización. El cáliz es persistente, y tiene 5 sépalos. En la corola de cada flor, sobre un receptáculo ensanchado, hay 5 pétalos blancos o rosados que en ocasiones presentan manchas rojizas (Figura 2). Las flores están agrupadas en racimos simples laterales y terminales o compuestos en ocasiones. Cada flor tiene numerosos estambres y carpelos, los cuales contienen un óvulo fértil que dará origen a cada una de las drupas que forman el fruto compuesto clasificado como una poli drupa (Clark and Finn, 2014; Hummer and Janick, 2006).



**Figura 9.** Flor de zarzamora. Fuente: Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Frutas y Hortalizas de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ).

### 2.2.4 Frutos

Los frutos constituyen un fruto complejo, con formado por varios frutos o drupeolas. Cada uno de estas al principio son firmes y verdes, gradualmente se volverán rojas y luego se intensificará su color hasta adquirir una tonalidad purpúrea, negra brillante y uniforme al momento de haber alcanzado su madurez (Figura 3) (Saltos, 2001).



**Figura 10.** Etapas de maduración del fruto de zarzamora. Fuente: Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Frutas y Hortalizas de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ).

### **2.3 Calidad del fruto de zarzamora.**

Como productos frescos, las frutas y hortalizas deben cumplir una serie de requisitos que aseguren su consumo, mejoren la nutrición y no pongan en riesgo la salud del consumidor. En este contexto, la zarzamora debe de cumplir con los siguientes parámetros ubicados por su importancia en la cadena de comercialización: 1) buena apariencia; la cual engloba el color, tamaño, forma y ausencia de defectos; 2) una firmeza adecuada, 3) un sabor característico de esta fruta y 4) un contenido nutricional adecuado (Mitcham *et al.*, 1998). Aunque también se indica en otras fuentes que estos productos deben ser inocuos o libres de patógenos al consumo humano.

Por ello las oficinas gubernamentales de todos los países emiten normas para regular los criterios que definan los diferentes niveles de calidad en que se pueden clasificar estos frutos. Estados Unidos a través de la USDA en el 2016, actualizó la norma de calidad vigente desde 1928, la cual establece dos grados de calidad (US1 y US2). La norma de calidad US1, establece que los frutos deben ser firmes, bien coloreados, bien desarrollados, no sobre-maduros, **libres** de cálices, hongos y pudriciones, así como **libres** de daños causados por tierra y otra materia; deben estar **libres** de materia extraña, marchitez, humedad, insectos, daños mecánicos y otros medios. En la clase US2 se permiten tolerancias con porcentajes mayores; por ejemplo, que no contengan más del 10% por volumen de bayas, en cualquier lote muestreado, con daños severos y no más del 2% de frutillas afectadas por

hongos y pudriciones (USDA, 2016). Las pudriciones son una de las causas más importantes de pérdidas de frutos de zarzamora en la etapa poscosecha, y conlleva a grandes pérdidas económicas.

Las tolerancias del grado US1 son: no más del 1% del lote puede estar afectado por hongos y no más del 5% debe presentar otros daños severos. A falta de una normativa que establezca los criterios de aceptación y rechazo para este producto, las empresas productoras de zarzamora en México, establecen los lineamientos de producción en concordancia con las normas establecidas por USDA y con ello garantizar las exportaciones de la zarzamora (USDA, 2016). Resulta difícil tener un control de estos parámetros de calidad, debido a que las tolerancias de defectos por frutos o lotes muestreados son mínimas, sin embargo, los sistemas de producción, deben de contar con las tecnologías adecuadas para que la producción mantenga y cumpla los parámetros más altos de calidad que establecen las empresas extranjeras o en su defecto las oficinas gubernamentales.

En México, está en proceso de publicar una norma que regulará la calidad de la zarzamora para el mercado nacional. El Comité Técnico Nacional de Normalización de Industrias Diversas de la Secretaría de Economía, desarrolló el proyecto de Norma Mexicana PROY-NMX-FF-129-SCFI-2016 la cual establece tres grados de calidad: La clase extra establece que las zarzamoras deben tener un buen desarrollo y una coloración característica de la variedad, el fruto debe estar perfectamente sano, no debe de presentar defectos graves, en esta clase se permiten tolerancias no más del 5 %, en número o en peso de zarzamoras con defectos superficiales muy ligeros, siempre y cuando no afecte la calidad del fruto.

En las clases I y II se permiten tolerancias con porcentajes mayores que la clase extra; por ejemplo, que no contengan más del 10 % del peso de la zarzamora una regresión de color, que las cicatrices sean pequeñas, una deformidad ligera, esto siempre y cuando la fruta no pierda sus características esenciales; las frutas deben estar libres de mohos y plaguicidas autorizados. De acuerdo al proyecto de NMX-2016 la zarzamora en la etapa de cosecha debe de alcanzar una firmeza de 180

gramos-fuerza, 7.5 a 8.5 °Brix y una acidez mínima del 2 % expresada como ácido málico (PROY-NMX-FF-129-SCFI, 2019).

Se puede observar que la Norma mexicana (PROY-NMX-FF-129-SCFI-2016) tiene una mayor tolerancia que la Norma de la USDA, no obstante, esa norma está destinada para el mercado nacional y no sería una referencia para el producto de exportación. Dado que la producción de zarzamora en México se destina principalmente a la exportación, las normas que determinan su calidad son las que se acuerdan a través de los convenios específicos entre empresas exportadoras e importadoras que en general son más exigentes que la Norma Oficial de la USDA. No obstante, esa norma es una referencia de lo mínimo de calidad para todas las compras de ese país.

De acuerdo con la información descrita, se percibe que la presencia de organismos que visualmente deterioren los embarques de zarzamora es un factor crítico que expone a los exportadores a posibles rechazos de producto en el mercado de destino donde ya no tiene ninguna posibilidad de canalizar ese producto a otros usuarios con la consecuente pérdida económica y de producto.

## **2.4 Organismos de deterioro de la zarzamora y su control**

Aunque ya se ha establecido que hay diferentes factores que afectan la calidad poscosecha de la zarzamora; la presencia de pudriciones en el fruto son un tema central dentro del manejo de este producto y de manera particular en los puntos de arribo a los mercados de destino, puede significar un elemento de rechazo de la producción con la consecuente pérdida económica.

### **2.4.1 Importancia de la enfermedad de moho gris en frutillas.**

Las pudriciones son las principales causas de pérdida en la etapa pre y poscosecha de la producción de frutas frescas (Zhang *et al.*, 2016), esta enfermedad se considera de alto riesgo por su rápido mecanismo de deterioro y propagación en el fruto, ocasionando así pérdidas económicas irreparables (Dean *et al.*, 2012). En opinión de la comunidad de patólogos de plantas, el ataque por *Botrytis cinerea* en

diferentes cultivos ocupa el segundo lugar en importancia (Dean *et al.*, 2012). Se ha señalado grados de incidencia del 33 al 100 % por ataque de hongos y levaduras en muestras de zarzamora y frambuesa en supermercados de Estados Unidos indicándose que los hongos más comunes por orden de importancia fueron *Botrytis cinerea*, *Rhizopus* (en fresa), *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium* y *Fusarium* (Tournas y Katsoudas, 2005). En México no se tenían reportes de las principales especies que causaban el deterioro en zarzamora. En un reporte reciente (Terrones-Salgado *et al.*, 2019) se informó que, en 211 muestras de zarzamora obtenidas en 17 localidades productoras de zarzamora en Colima, Estado de México, Jalisco, Michoacán y Morelos todas confirmaron la presencia de *Botrytis cinerea*. Esto indicó la amplia dispersión de este patógeno en todas las zonas de cultivo y por ello se convierte en un punto central de investigación para aportar datos que ayuden al control de esta enfermedad y así reducir su impacto en la comercialización de esta fruta en México.

#### **2.4.2 Pudrición por *Botrytis***

La presencia y severidad del daño por el ataque de *Botrytis cinerea* es variable según la época del año y la zona de producción, aumentando durante la temporada invernal, debido a una alta humedad relativa la cual conlleva a una rápida esporulación del hongo (Kozhar-Peever, 2018).

La infestación puede ocurrir desde la etapa de floración hasta la maduración del fruto, aunque los daños de más impacto son los que ocurren en el fruto durante la cosecha y poscosecha. En esas operaciones, la detección visual no es suficiente puesto que frutos aparentemente sanos manifiestan los síntomas de la enfermedad durante la comercialización del producto (Williamson *et al.*, 2007). Por ello es importante conocer el ciclo de vida del patógeno para diseñar estrategias que reduzcan o inhiban la sobrevivencia del patógeno.

### **2.4.3 Ciclo de vida de *Botrytis cinerea* y síntomas de la enfermedad**

Las etapas asexuales como sexuales en el ciclo de *Botrytis cinerea*, conllevan a una sobrevivencia en condiciones favorables o desfavorables (Fillinger y Elad, 2016) (Figura 11).

#### **2.4.3.1 Etapa asexual**

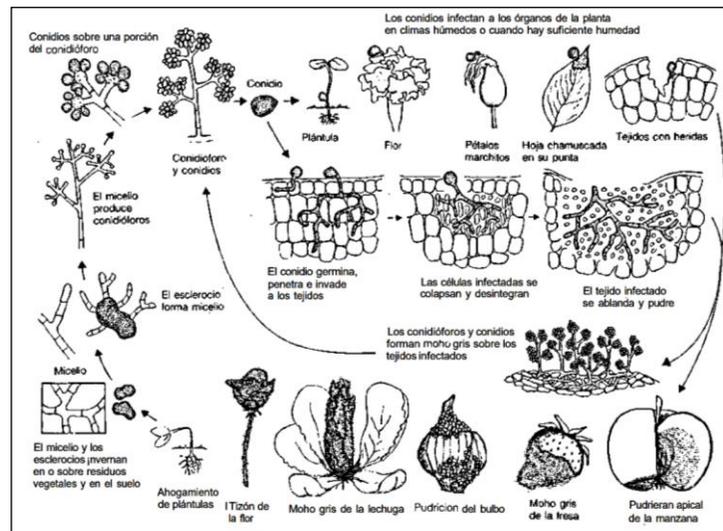
*Botrytis* produce numerosos conidios, conocidos también como macroconidios, nacen en las puntas de los conidióforos ramificados. El tamaño de los conidios está relacionado con la especie del hongo (Beever y Weeds 2004). El proceso de reproducción de estos sucede en un lapso de 8 horas, la liberación de estas últimas tiene lugar principalmente durante el día y está influenciada por cambios en la humedad relativa, estas pueden ser transportadas a largas distancias por las corrientes de aire y en las gotas de agua; el conidio invade y penetra los tejidos y las células infectadas colapsan y se desintegran causando la pudrición del tejido de la fruta (Agrios, 1995).

*Botrytis* inverna en forma de esclerocios o micelio, los cuales son resistentes a condiciones adversas (Holtz *et al.*, 2004), en condiciones favorables con periodos de humedad interrumpidos en primavera, los esclerocios germinarán para producir micelios y conidios; ocurre a 15 – 18 ° C y llegan a sobrevivir de 5-9 meses (Hsiang y Chastagner 1992). El micelio de *Botrytis cinerea* es ramificado, septado, hialino a pardo. Los conidióforos, que surgen directamente de los micelios o de los esclerocios, son altos, delgados, irregularmente ramificados en la porción terminal, con células apicales agrandadas o redondeadas, con racimos de conidios simultáneamente en dentículos cortos. Los conidios son lisos, hialinos o grises, con una longitud media de 10 y 5 µm de ancho (Fillinger y Elad, 2016).

*Botrytis* también puede producir estructuras de reposo temporal conocidas como clamidosporas que tienen paredes engrosadas, hialinas. Estas estructuras pueden variar considerablemente en tamaño y forma; pueden sobrevivir a periodos de sequía de hasta 3 meses (Urbasch, 1983).

### 2.4.3.2 Etapa sexual

La etapa sexual, también conocida como *Botryotinia spp*, es poco común en la naturaleza. La fertilización de las estructuras escleróticas receptoras por parte de la esperma induce la producción de apotecios; en las estructuras sexuales, se generan ascas y ascosporas. Las ascas contienen ascosporas que se encuentran en la superficie superior del apotecio (Urbasch, 1983). Ambos tipos de apareamiento son de naturaleza generalizada y la mayoría de los aislamientos son heterotálicos, es decir, solo pueden producir ascosporas cuando se cruzan con el tipo de apareamiento opuesto (Faretra *et al.*, 1988).



**Figura 11.** Ciclo biológico de *Botrytis*. (Agrios,1997)

Los frutos infectados con el hongo de *Botrytis cinerea* manifiestan una diversidad de síntomas, principalmente en las estructuras reproductivas de la planta y pueden ocasionar la pérdida total de la producción, el hongo actúa afectando diferentes órganos, incluyendo hojas, flores, brotes y frutos (Kozhar y Peever, 2018).

El síntoma que se presenta con mayor frecuencia es la pudrición blanda en el fruto, acompañada de colapso estructural, en la etapa final de sintomatología, el fruto presenta una aparición de masa grisácea de conidios. Los síntomas que se

manifiestan en los pétalos de las flores, son similares a los que ocurren en el fruto y varían dependiendo de las condiciones ambientales (Williamson *et al.*, 2007).

Kozhar y Peever (2018) señalan que en los frutos de frambuesa el hongo ataca las hojas maduras senescentes, provocando lesiones en forma de cuña con una coloración marrón y los márgenes de la hoja se tornan amarillos, la infección se extiende a los tallos vegetativos con lesiones de color marrón pardo, ocurre una rápida propagación en la corteza primaria del tallo. Estos síntomas provocan un retraso en el desarrollo de las yemas en los nódulos infectados, si la planta sobrevive esa infección, la producción de fruta de la siguiente temporada se ve notablemente disminuida. Debido a la diversidad de síntomas que presenta los diferentes órganos de la planta de zarzamora, resulta complicado establecer una estrategia específica para su control, por ello es fundamental conocer los mecanismos de infección del hongo, debido a esto, es necesario establecer medidas y estrategias que eviten la prevalencia del microorganismo y generen la menor pérdida y daño al fruto, así como el menor impacto al medio ambiente (Kozhar y Peever, 2018).

#### **2.4.4 Mecanismo de infección**

El hongo de *Botrytis cinerea* se vuelve patógeno cuando las condiciones de crecimiento para sus huéspedes son limitantes y el microclima es adecuado para el desarrollo del hongo (Fermaud y Le Menn, 1992). La germinación de los conidios en la superficie de las plantas se ve favorecida en gran medida por la presencia de nutrientes como azúcares simples y polen (Chou y Preece, 2008).

Los estudios morfológicos, han demostrado que, aunque los conidios de *Botrytis* comúnmente germinan en los tejidos de las flores, particularmente en los pétalos y sépalos de su hospedante, la invasión de los tejidos internos no siempre continúa (Holtz *et al.*, 2004). Estas infecciones se conocen como inactivas o latentes. En tales casos, la propagación del hongo dentro del tejido del huésped se detiene cuando los tejidos del huésped se vuelven senescentes o los niveles de azúcar cambian

como en la maduración o en el almacenamiento (Meyer *et al.*, 2000; Sanzani *et al.*, 2012).

Se ha probado que *Botrytis* puede estar presente como endófito, es decir, crecer dentro de los tejidos de la planta huésped sin generar síntomas de enfermedad y también provocar poca o ninguna respuesta del huésped (Barnes y Shaw 2003; Sowley *et al.*, 2010). Estas infecciones pueden volverse agresivas en una etapa posterior, sobre todo en el momento de la floración, o durante el almacenamiento, o bien, transferirse de forma no sintomática por propagación clonal o de semillas del hospedador (Barnes y Shaw 2003).

Estudios realizados por Viret *et al.*, (2004) señalan que la infección inicia en las flores debido a que observaron que la infección se produce en la base de los estambres, en el área del receptáculo. Así mismo Jersh *et al.*, (1998) reportaron que la infección en fresa en la colonización del receptáculo por *Botrytis cinerea* se produce a través de estambres y que la infección puede conducir al desarrollo de la pudrición por el moho gris.

En la zarzamora los pétalos son una fuente eficaz de inoculación del hongo, debido a un bajo déficit de presión de vapor durante el día (alto nivel de humedad) y temperaturas nocturnas de hasta 20 ° C (Xu *et al.*, 2000). Calvo-Garrido *et al.*, (2014) reportaron que la etapa de floración es la más importante para el desarrollo de podredumbre del racimo de uvas. Las aplicaciones de fungicidas en la etapa de floración de la uva disminuyen significativamente el desarrollo de *Botrytis*.

Contradictoriamente Kozhar y Peever (2018) reportaron en un estudio con frutos de frambuesa del noroeste de Washington que las flores no son las rutas de infección exclusiva, ni la principal para el desarrollo del moho gris, debido a que no encontraron una correlación significativa entre la incidencia de colonización de flores por *Botrytis cinerea* y la incidencia de colonización de la fruta que se desarrolló a partir de esas flores. Así mismo observaron una mayor incidencia de infección de frutos que de flores, la cual asocia a una exposición corta para flores

individuales y mucho mayor para los frutos, lo que permite que ocurra una colonización de *Botrytis cinerea*, por ello en su estudio concluye que el fruto tiene un riesgo potencial de colonización mayor que las flores debido a la ventana potencial más larga de infección.

Los autores proponen que la colonización de estambres y sépalos puede facilitar la infección externa de la fruta en la última etapa de producción, especialmente para las frambuesas cosechadas mecánicamente en esta región, ya que el 80% de las frambuesas que se cultivan en el noroeste de Washington se realiza de manera mecánica, atribuyéndole a malas prácticas durante la cosecha ya que los recolectores dañan la fruta que se queda en las plantas durante la cosecha, creando una ruta externa para que *Botrytis cinerea* se propague desde las partes florales infectadas hasta la frambuesa dañada (Kozhar y Peever, 2018).

Los daños físicos son un factor de deterioro importante, a consecuencia de que los frutos que presentan daños físicos son más susceptibles al ataque de *Botrytis cinerea* (Terrones-Salgado *et al.*, 2019). Un mecanismo de infección que tiene una relevancia alta son las heridas, estas facilitan la entrada del hongo y una vez dentro utilizan mecanismos como la formación de apresorios, producción de fitotoxinas y secreción de enzimas que hidrolizan la pared celular (Zhang *et al.*, 2016). Estudios de Ciliberti *et al.*, (2015) contribuyen a la afirmación que las heridas en los frutos aumenta la incidencia de moho gris, su estudio se basó en frutos de uva, donde la incidencia del hongo de *Botrytis* fue de 1.5 a 5 veces mayor, comparada con uvas totalmente sanas y en condiciones óptimas de almacenamiento.

Las condiciones ambientales como la humedad y temperatura juegan un papel en el desarrollo del moho gris, cuando las temporadas son secas, la temperatura del aire puede convertirse en el factor limitante para que *B. cinerea* infecte y desarrolle en los frutos de frambuesa (Kozhar y Peever, 2018). Los factores ambientales y prácticas en el cultivo influyen en el desarrollo de la enfermedad y es por ello que, se busca una estrategia eficiente para su control.

El efecto de la luz es un parámetro importante para *B. cinerea*, dado que es una cepa sensible a la luz la cual detecta activamente las condiciones de luz para ajustar su desarrollo y patogenicidad (Zhang *et al.*, 2016). La luz es una señal de desarrollo esencial para *Botrytis cinerea* debido que desencadena exclusivamente la formación de conidios, mientras que la oscuridad constante inicia únicamente la formación de esclerocios (Fillinger y Elad, 2016).

#### **2.4.5 Procedimientos de control**

*Botrytis cinerea* es un hongo difícil de controlar y erradicar debido a la gran variedad de mecanismos de infección, sustratos, estructuras de sobrevivencia (micelios y/o conidios) y su prolongada prevalencia como esclerocios en los desechos del cultivo. Es fundamental la comprensión detallada de la interacción hospedante-patógeno, así como el microambiente óptimo para el desarrollo del hongo para que las medidas de control sean exitosas (Williamson *et al.*, 2007).

Hoy en día la resistencia de los hongos a los fungicidas es un tema cada vez más preocupante (Leroch *et al.*, 2011). Hahn (2014) reportó que *Botrytis* tiene una adaptación a los tratamientos con fungicidas mediante mutaciones que provocan una resistencia al control químico.

Ellis *et al.*, (2008) informaron que la restricción de las aplicaciones de fungicidas para el control de las pudriciones en el periodo de floración de la frambuesa, presentó mayor incidencia de la enfermedad en comparación con un programa de aspersión en el que se aplicaron fungicidas durante toda la temporada o solo antes de la cosecha.

En sus evaluaciones de patogenicidad de aislados de *Botrytis cinerea*, Terrones-Salgado *et al.*, (2019) señalaron que aquellos aislados que mostraron mayor agresividad en el desarrollo de la enfermedad correspondían a muestras procedentes de zonas de cultivo donde la aplicación de fungicidas era más intensa por lo que sugieren que la agresividad mayor puede deberse a una selección de cepas por los mismos fungicidas. Esto explicaría por qué en las prácticas de control

de la enfermedad se tiende a realizar mayores aplicaciones del compuesto y mayores concentraciones del compuesto activo. Existe una gran necesidad de mejorar las estrategias de manejo de la pudrición por *Botrytis* basados en la interacción patógeno-huésped y con ello, disminuir la aplicación de fungicidas.

#### 2.4.5.1 Control químico

Como consecuencia del uso desmedido de fungicidas, se han diseñado programas de aspersión mixta, donde en cada aspersión se utiliza un grupo de fungicidas diferente, esto para reducir el riesgo de que el microorganismo genere resistencia a estos productos, así como mantener su uso por debajo del nivel máximo permitido para cada ingrediente activo. El uso extendido y excesivo de fungicidas con ingrediente activo de carbamato de metilbencimidazol (MBC) inició hace tres décadas, lo cual ha aumentado la resistencia en *Botrytis cinerea* (Williamson *et al.*, 2007). Los compuestos que han generado una alta resistencia en este hongo son los Benzimidazoles y Fenilpirroles (Leroux *et al.*, 2002), se debe tener una disminución de su uso, así mismo, la rotación de fungicidas entre diferentes clases de compuestos y su limitación a uno por temporada para disminuir la resistencia.

El uso excesivo de fertilizantes nitrogenados estimula el rápido crecimiento vegetativo y aumenta también el riesgo de moho gris y otras enfermedades (Williamson *et al.*, 2007). Por el uso inadecuado de productos químicos, le lleva a la implementación de estrategias potenciales con bacterias endófitas, demostrando ser agentes eficaces para el control de enfermedades.

#### 2.4.5.2 Control biológico del agente patógeno

Diferentes microorganismos endofíticos brindan una oportunidad para reducir o eliminar el control con agroquímicos y tienen una eficiencia de controlar biológicamente patógenos durante las etapas pre y poscosecha de los frutos (Morales-Cedeño *et al.*, 2020).

Estudios realizados por Chowdhury y Bae (2018) identificaron cepas de bacterias endófitas para combatir enfermedades en la etapa de producción de frutas, la

bacteria *Burkholderia stabilis* presenta actividad inhibidora del patógeno *Botrytis cinerea*.

Otra de las técnicas potenciales es el uso de extractos de plantas, actualmente se sabe que estos inhiben el crecimiento y desarrollo de hongos debido a la presencia de compuestos antimicrobianos (Pane *et al.*, 2011). El extracto de lavanda, hinojo, tomillo, poleo, salvia y especialmente neem inducen el mecanismo de resistencia del moho gris en frutos heridos y aparentemente sanos (Gholamnezhad, 2019).

Las bacterias benéficas han mostrado previamente potencial como agentes de control biológico en el manejo del moho gris (Yildiz *et al.*, 2007). Se tienen estudios de investigaciones sobre el biocontrol del moho gris en cultivos florícolas, se identificó una cepa de *Pseudomonas fluorescens* la cual reduce la incidencia de moho gris. El efecto de *P. fluorescens* se probó en flores de petunia, la incidencia de la enfermedad se redujo en un 77% (Gould *et al.*, 1996).

#### 2.4.5.3 Control de patógenos a través de prácticas de manejo del cultivo

Los factores que también influyen en el desarrollo del moho gris son las buenas prácticas en el manejo del cultivo, las cuales contribuyen a reducir el riesgo de infección de *Botrytis*. Mantener una ventilación apropiada en el cultivo para proporcionar un movimiento de aire adecuado y una buena recepción de luz, ayuda a reducir las gotas de agua producidas por la lluvia y el exceso de riego, con esto se evita el exceso de humedad, reduciendo la generación de conidios, germinación y penetración del hongo al hospedador (Gubler *et al.*, 1987).

Algunos de los problemas de pudriciones en frutillas causadas por las lluvias durante el período de floración se han combatido mediante túneles de plástico que actúan como una barrera de control de humedad para la planta, con esta técnica se han observado reducciones de enfermedades en un 90% de los frutos de fresa en comparación al cultivo convencional, sin embargo, es importante fomentar una ventilación adecuada para evitar el exceso de humedad (Xiao *et al.*, 2001). Estudios realizados por West *et al.*, (2000) reportaron que las modificaciones espectrales de

la luz del día mediante filtros UV cercanos incorporados en cubiertas plásticas ha sido útil para reducir la conidiación y la infección del moho gris en un 26 % en frutos de fresa, una nueva tecnología que puede ser un componente valioso para la gestión integrada del moho gris en los cultivos protegidos.

Otra técnica para el control del moho gris es por medio de túneles de plástico propuestas por Dik y Wubben, (2004) donde calientan ligeramente el túnel antes del amanecer para elevar la temperatura de la planta por encima de la temperatura ambiente, reduciendo la formación de rocío en las hojas y evitar una humedad excesiva en la planta, que propicie el desarrollo del moho gris.

En un manejo integrado del cultivo de fresa propuesto por Berrie *et al.*, (2002) sugiere las siguientes prácticas que ayudan a reducir la infección por *Botrytis* en las plantas:

- Reducir los residuos de plaguicidas mediante un tratamiento químico mínimo, alternando grupos químicos para reducir la resistencia.
- Aplicación de agentes de control biológico apropiados para el régimen de temperatura y humedad.
- Eliminación escrupulosa de material de cultivo muerto para eliminar el inóculo entre plantas.
- Poda efectiva y buen control de malezas para crear un dosel abierto y ventilado.
- Manejo de plagas de insectos que hieren la planta y actúan como vectores.

#### **2.4.6 Control poscosecha**

Tener un manejo adecuado de los frutos en la etapa poscosecha, ayuda a mantener la calidad obtenida en la etapa de producción, la principal forma para disminuir los riesgos de deterioro es mantener una correcta cadena de frío. Si la temperatura

durante el envío está estrictamente controlada, el daño causado por el moho gris se puede reducir sustancialmente (Williamson *et al.*, 2007).

#### 2.4.6.1 Control biológico durante el manejo poscosecha

El deterioro de frutas por patógenos, especialmente hongos, es el principal responsable de pérdidas significativas durante el almacenamiento del fruto para después ser llevado a las cadenas de comercialización. El control con las bacterias *Aureobasidium pullulans*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* y *Lactobacillus plantarum* presenta en frutos de fresa tienen una disminución de descomposición del 10 al 100 %, contra *Botrytis cinerea* (Chen *et al.*, 2020, 2019).

#### 2.4.6.2 Envases recubiertos con sorbato de potasio.

Una alternativa para el control del hongo de *Botrytis* en el almacenamiento, es el recubrimiento de empaques con sorbato de potasio, esta técnica fue propuesta por Junqueira-Goncalves *et al.*, (2016), con esta técnica se reduce el crecimiento del hongo en zarzamoras, lo cual es una alternativa que puede ayudar para combatir esta enfermedad.

#### 2.4.6.3 Atmosferas modificadas activas

Las atmósferas controladas son una técnica complementaria al almacenamiento en frío, donde se utilizan presiones parciales bajas de O<sub>2</sub> y altas de CO<sub>2</sub> alrededor del fruto, con el objetivo de reducir su metabolismo y la proliferación de microorganismos patógenos (Brackmann *et al.*, 2012). Las presiones parciales bajas de O<sub>2</sub> y altas de CO<sub>2</sub> son cruciales para reducir la frecuencia respiratoria. Las bajas concentraciones de O<sub>2</sub> inhibe la citocromo-C oxidasa en la cadena de transporte de electrones (Gupta *et al.*, 2009) y el CO<sub>2</sub> elevado reduce la enzima isocitrato deshidrogenasa en el ciclo del ácido tricarbónico (Liu *et al.*, 2004), lo que lleva a una reducción drástica del metabolismo durante el almacenamiento. Es por ello que el almacenamiento refrigerado asociado con la atmósfera modificada activa puede extender la vida poscosecha de las zarzamoras (Brackmann *et al.*, 2016).

Estudios realizados por Concha *et al.*, (2015), observaron una mayor vida de anaquel en frutos de arándano, a una concentración del 15 % de CO<sub>2</sub> en el almacenamiento con atmósferas modificadas activas, los arándanos tienen menor pérdida de peso y una mayor firmeza ; alta concentración de CO<sub>2</sub> puede reducir potencialmente no solo la tasa de respiración sino también la sensibilidad y producción de etileno, la oxidación, la descomposición de la fruta y la disminución de la presencia de hongos (Fonseca *et al.*, 2002).

Concentración del 10% de CO<sub>2</sub> en tratamientos de atmósferas modificadas activas en frutos de fresa, reduce la incidencia de *Botrytis* en los frutos (Franco-Gaytan *et al.*, 2017). Cuando se aplican concentraciones del 15 % de CO<sub>2</sub> en el almacenamiento se ve favorecido el contenido de vitamina C en los frutos de fresas (García *et al.*, 2017).

También se tienen estudios del almacenamiento de frutos de fresa a altas concentraciones de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> (80 kPa O<sub>2</sub> + 20 kPa CO<sub>2</sub> y 90 kPa O<sub>2</sub> + 10 kPa CO<sub>2</sub>) estas inhiben eficazmente el crecimiento microbiano y mejoran la firmeza de la fresa en comparación con el almacenamiento de la fruta en el aire y en 5 kPa O<sub>2</sub> + 20 kPa CO<sub>2</sub> (Pérez y Sanz, 2001). Almacenar el fruto de fresa a concentración de 90 kPa O<sub>2</sub> + 10 kPa CO<sub>2</sub> mantiene la calidad de la fruta durante 20 días (Van de Velde *et al.*, 2019 a,b).

Estudios realizados por Van de Velde y *et al.*, (2020), mostraron el efecto de atmósferas modificadas activas en el almacenamiento de frutos de zarzamora con altas concentraciones de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> (90 kPa O<sub>2</sub> + 10 kPa CO<sub>2</sub>) controla mejor el crecimiento de microorganismos, sin embargo, la atmósfera a esa concentración tiene efectos negativos en la estabilidad de compuestos fenólicos, disminuyendo su concentración y afectando el color del fruto a los 18 días de almacenamiento. Brackmann *et al.*, (2016), recomiendan que la mejor condición atmosférica para el almacenamiento de zarzamoras de la variedad "Tupy" es de 5 kPa O<sub>2</sub> con 15 kPa CO<sub>2</sub>, donde los parámetros de calidad no son afectados.

De acuerdo con los antecedentes citados, hasta el momento no hay literatura que mencione la efectividad de tratamientos poscosecha de atmósferas modificadas activas en zarzamoras donde evalúen la inactivación de *Botrytis cinerea* en frutos de zarzamora, sin afectar las características de calidad del fruto, por ello el presente trabajo evaluará esta tecnología para determinar la reducción o inactivación del principal deteriorador (*Botrytis cinerea*) de la zarzamora.

#### 2.4.6.4 Campos de pulsos eléctricos

Los campos eléctricos pulsados conforman una tecnología no térmica, se ha utilizado ampliamente para la inactivación de microorganismos patógenos y aumentar la vida de los alimentos líquidos y productos frescos sin afectar en gran medida sus propiedades nutricionales y sensoriales (Aguiló-Aguayo *et al.*, 2010). El procesamiento de campo eléctrico pulsado implica la aplicación de intensos campos eléctricos de 10 - 80 kV/cm por un corto período de tiempo (Chen *et al.*, 2009).

Los tratamientos con campos eléctricos pulsados se utilizan para inactivar microorganismos patógenos transmitidos por los alimentos, como *E. coli* O157: H7, *Salmonella spp.* y *L. monocytogenes*, así como bacterias de deterioro, mohos y levaduras (Jin *et al.*, 2009; Gurtler *et al.*, 2010; Reina *et al.*, 1998). Estos tratamientos han demostrado el potencial de mantener la calidad físico-química de los productos alimenticios líquidos, sin afectar sustancialmente las propiedades sensoriales y la composición de compuestos relacionados con la salud (Guo *et al.*, 2014). La mayoría de estos estudios se han centrado en alimentos líquidos, como jugos y bebidas. Existe un interés creciente en el pretratamiento con campos eléctricos pulsados para productos agrícolas frescos (Angersbach *et al.*, 2000; Lebovka *et al.*, 2004).

Estudios realizados por Jin *et al.*, (2017) demuestran que los frutos de arándano tratados con el pretratamiento de campos eléctricos pulsados en combinación con una solución desinfectante, permite potencialmente una descontaminación eficaz de los arándanos, así como de otras frutas pequeñas, la capacidad que tiene este tratamiento, es utilizado como un proceso de desinfección poscosecha, este estudio

demonstró una reducción logarítmica de *E.coli*, *Listeria* y microorganismos nativos. Además, este tratamiento presenta factores favorables como preservar el aspecto visual de los arándanos, como el color, aumento de antocianinas y los compuestos fenólicos entre 10 y 25% respectivamente, y mejorar sus propiedades nutricionales. Es por ello que se sugiere la innovación de los campos eléctricos pulsados para varias frutas frescas.

De acuerdo con los antecedentes anteriormente citados, hasta el momento no hay información disponible para la inactivación de *Botrytis cinerea* en frutas de zarzamora enteras en los cuales se utilice esta tecnología

#### 2.4.6.5 Usos del Metil jasmonato como elemento señalizador para la respuesta a patógenos

El metil jasmonato (MeJA) es una fitohormona de la familia del ácido jasmónico (JA) el cual juega un papel importante en el mecanismo de defensa de la planta, así como durante el crecimiento y el desarrollo de esta. El MeJA induce estrés oxidativo y acumulación de metabolitos secundarios en las células vegetales, así mismo se ha descrito como molécula de señalización en las respuestas al estrés de las plantas, tanto de tipo biótico y abiótico, incluyendo heridas, patógenos/insectos y daños por sequía o frío (Wang *et al.*, 2021). Se tienen estudios donde reportan que le MeJA mejora la resistencia a enfermedades en varias frutas durante el almacenamiento poscosecha (Wang *et al.*, 2015).

Los estudios realizados por estos autores (Wang *et al.*, en el 2015) informaron que la aplicación de 100  $\mu\text{mol/L}$  de MeJA en precosecha en frutos de uva mostró una reducción de la incidencia de *Botrytis cinerea* y esto podría deberse a una mayor expresión del gen *VvNPR* relacionado con la defensa, acumulación de fitoalexinas de estilbeno y mayor generación de especies reactivas de oxígeno como el peróxido de hidrogeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

Saavedra *et al.*, (2017) reportan que la aplicación de metil jasmonato en precosecha induce la resistencia de la fresa contra *Botrytis cinerea* esto se puede atribuir a su

capacidad para retrasar la maduración y senescencia del fruto, así como activar genes de defensa y aumentar las actividades de las enzimas de defensa.

Estudios realizados por Wang *et al.*, en el 2020 en frutos de arándano, reportan que la aplicación de MeJA induce el aumento de óxido nítrico (NO) y peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) provocando una resistencia contra infecciones provocadas por *Botrytis cinerea*, a su vez promueve las actividades de las enzimas relacionadas con la defensa al estrés oxidativo como la superóxido dismutasa, catalasa, ascorbato peroxidasa, quitinasa y  $\beta$  1,3-glucanasa.

Los estudios de aplicación de MeJA en zarzamora durante su manejo poscosecha, son nulos; por lo que este trabajo plantea los primeros trabajos de su uso como un elemento para el control de este patógeno

#### 2.4.6.6 Pulsos de luz

Los pulsos de luz son una tecnología innovadora que implica pulsos de corta duración (1  $\mu$ s - 0,1 s) de alta potencia con un amplio espectro de emisión que va desde UV hasta infrarrojo cercano de 200 - 1100 nm (Oms-Oliu, *et al.*, 2010). Esta tecnología se utiliza en la etapa poscosecha para desinfectar las superficies de frutas y verduras actuando sobre las células de los microorganismos rompiendo y alterando sus secuencias de ADN, inhibiendo así la capacidad reproductiva del patógeno (Garvey *et al.*, 2014).

Los pulsos de luz se han considerado como una nueva tendencia en la industria de las frutas para evitar o reducir el uso de fungicidas químicos (Rodov *et al.*, 2012). Bernal *et al.*, (2019), demostraron los efectos de los pulsos de luz en la reducción de la capacidad del hongo de *Botrytis cinerea* para la formación de colonias en frutos de fresa, los frutos expuestos a 10 s presentaron una disminución de los recuentos de colonias en 2.0 ciclos logarítmicos y después de 40 s de tratamiento, el número de colonias se redujo en 3.5 ciclos logarítmicos. Los frutos que se exponen a pulsos de luz de 10 s o 20 s presentan un retraso de 2 días en el inicio de la infección por *Botrytis cinerea*.

Esta tecnología ha tenido grandes atribuciones para la industria de productos frescos; principalmente para las fresas, debido a que son frutos que no les puede dar un tratamiento de lavado para la desinfección, ya que la presencia de humedad estimularía el crecimiento de moho y disminuiría su vida útil (Civello *et al.*, 1997). Estudios realizados por Cao *et al.*, en 2019, en frutos de fresa evaluaron tres diferentes tratamientos de pulsos de luz: 3 J/cm<sup>2</sup> por 10s, 5 J/cm<sup>2</sup> por 165 s y 3 J/cm<sup>2</sup> por 20 s, los tres tratamientos muestran una incidencia menor de *Salmonella*, retrasan el desarrollo visual de mohos; los factores de calidad de la fresa, así como el contenido de antocianinas, contenido fenólico total, no son afectados por los tratamientos de pulsos de luz.

Hasta el momento no se tiene una estrategia de control para la pudrición del fruto de zarzamora ocasionada por el hongo *Botrytis cinerea*, la diversidad de mecanismos de infección hacen que las estrategias de control sean menos eficientes, el control químico es una de las técnicas más utilizadas y ha provocado una resistencia del hongo a los fungicidas y por ende el microorganismo tiene una mayor agresividad en el ataque del cultivo, esto conlleva a buscar alternativas de control que reduzcan el ataque por *Botrytis cinerea* y minimizar la resistencia. Es importante considerar la interacción que tiene el patógeno con el hospedador, para tener la técnica eficiente de acuerdo al órgano de infección.

También es importante considerar que el consumo de estas frutas es en estado fresco y que durante su empaque no se aplican procesos de desinfección encaminados a reducir el riesgo de contaminación por patógenos de interés humano (Li y Wu, 2013) y por tanto tampoco lo hay para el control de bacterias deterioradoras del propio fruto.

De acuerdo con los anteriores antecedentes es claro que la incidencia de *Botrytis cinerea* es un factor crítico que sigue ocasionando pérdidas poscosecha de zarzamora, aunque se realizan aplicaciones de fungicidas en campo estos tratamientos generan resistencia y no han resuelto el problema. Por ello el objetivo del presente trabajo de tesis fue evaluar la eficacia de diferentes procedimientos

de control alternativos como la aplicación de atmosferas modificadas activas (15 % CO<sub>2</sub> + aire); la aspersión de diferentes concentraciones de metil jasmonato y la aplicación de campos eléctricos pulsados aplicados en poscosecha para reducir la incidencia del hongo *Botrytis cinerea* y mantener la calidad del fruto.

### 3. JUSTIFICACIÓN

México es el principal productor y exportador de zarzamora a nivel mundial. La pudrición del fruto de zarzamora es una de las principales causas que deteriora la calidad del fruto, generando su rechazo en los mercados internacionales de comercialización. Se ha reportado que la pudrición es causada por *Botrytis cinerea*, este deteriorador tiene una variabilidad de mecanismos de infección, por ende, el control no es completamente efectivo.

Los estudios de procedimientos tecnológicos que presenten una inhibición de *Botrytis cinerea* son escasos; por ello el presente trabajo de tesis se enfocará en evaluar e identificar procedimientos tecnológicos que permitan el control de *Botrytis cinerea* en frutos de zarzamora. Con este estudio se pretende generar información que permita a la industria de zarzamora establecer estrategias que permitan disminuir o inhibir el problema de pudrición en frutos de zarzamora.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

Evaluar alternativas tecnológicas para inhibir el crecimiento de *Botrytis cinerea* en frutos de zarzamora en estado fresco.

### 4.2 Objetivos específicos

1. Evaluar la eficacia del almacenamiento en atmósferas modificadas en el desarrollo de *Botrytis cinerea* y su efecto en la calidad y vida de anaquel de los frutos de zarzamora en estado fresco.
2. Evaluar la eficacia de la aplicación de metil jasmonato en frutos de zarzamora y su efecto en el desarrollo de *Botrytis cinerea* y vida de anaquel durante el almacenamiento.
3. Evaluar la eficacia de los campos eléctricos pulsados en el desarrollo de *Botrytis cinerea* y su efecto en la calidad del fruto de zarzamora durante el almacenamiento.

## 5. METODOLOGÍA

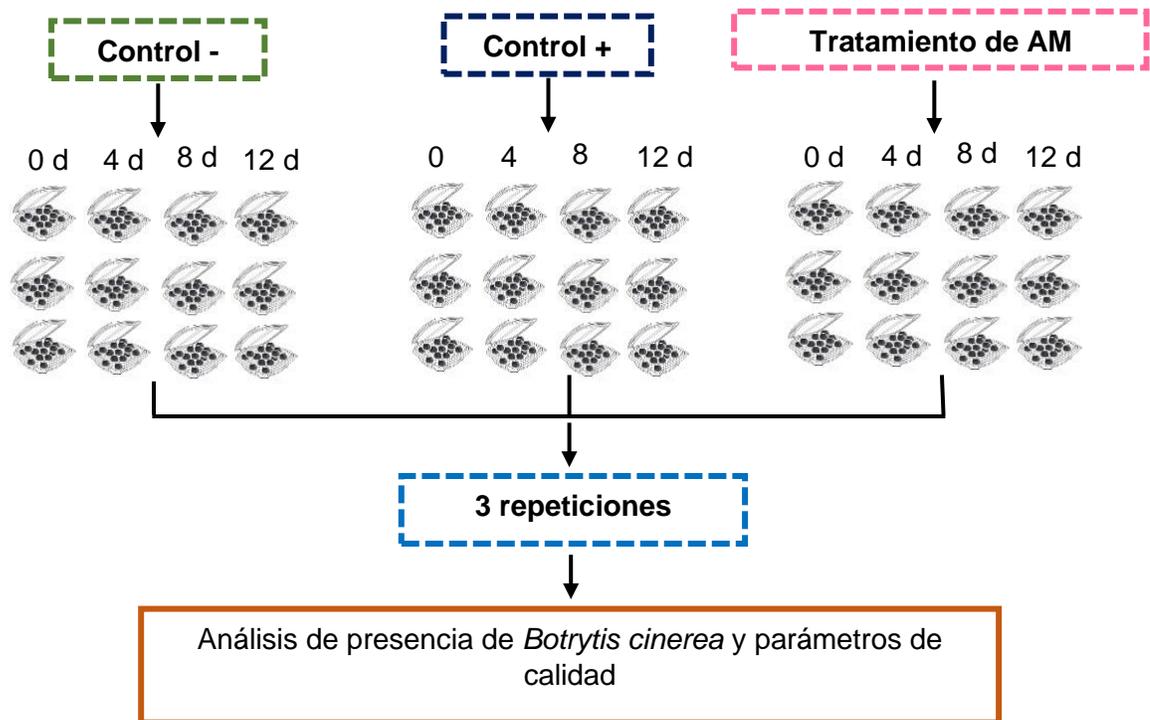
### 5.1 Origen de las muestras

Para los tratamientos poscosecha, muestras de zarzamora de la variedad "Sultana" fueron proporcionadas por una empresa exportadora ubicada en Zamora Michoacán. Los frutos fueron recolectados en madurez comercial, mostrando una coloración negro brillante (ángulo Hue: 320°, °Brix: 13.8, acidez titulable:1.0 %), colocados en clamshells de 6 onzas y empacados en cajas de cartón; las cajas completas fueron presfriados a 1 °C, se transportaron protegiendo las cajas con paquetes de hielo al Laboratorio de Fisiología y Bioquímica Poscosecha de Frutas y Hortalizas de la Universidad autónoma de Querétaro (UAQ). En el laboratorio los frutos fueron, almacenados a 1 °C durante 24 h antes de la aplicación de los tratamientos.

### 5.2. Tratamiento de Atmósferas modificadas (AM)

#### 5.2.1 Estrategia experimental

Los frutos se dividieron en tres grupos (36 *clamshell*): control negativo (fruta de campo sin desinfectar ni inocular), control positivo (frutas desinfectadas e inoculadas), tratamiento de AM activa introduciendo una mezcla de 15 % de CO<sub>2</sub> + aire (Figura 12).



**Figura 12.** Estrategia experimental para la aplicación de atmósferas modificadas activas. Control negativo (frutas de campo sin desinfectar ni inocular), Control positivo (frutas desinfectadas e inoculadas), tratamiento de AM (15% CO<sub>2</sub>). Todos los tratamientos fueron almacenados por 0, 4, 8 y 12 días a 10 °C.

### 5.2.2 Tratamiento de atmósferas modificadas activas

Los *clamshell* de 6 oz fueron colocados individualmente en bolsas de polietileno de 20 x 30 cm (Foodsaver, Oster), se empacaron al vacío en una empacadora de sobremesa (RMT VP-580 AA), se les inyectó una mezcla certificada de gas de 15 % de CO<sub>2</sub> balance aire y se almacenaron por 0, 4, 8 y 12 días a 10 °C (Brackmann *et al.*, 2016 ).

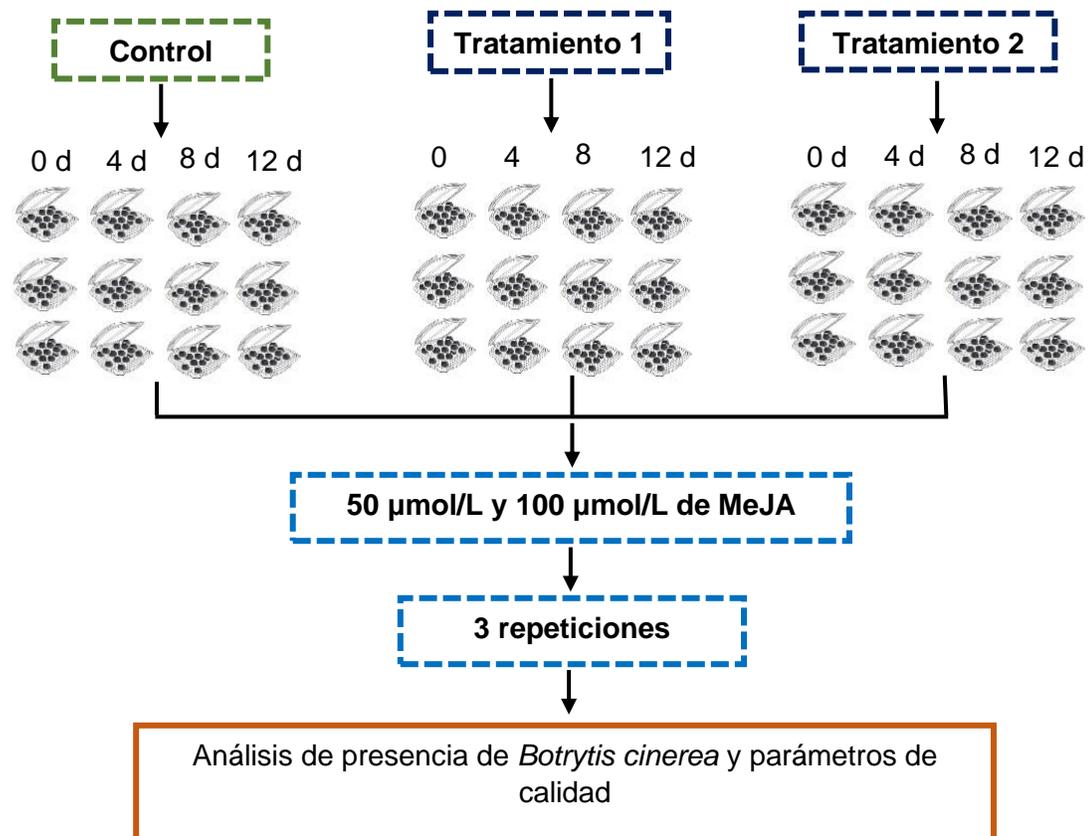
Para confirmar que el tratamiento no afecta los parámetros de calidad, se midieron las variables reversión de color, porcentaje de marchitez, color firmeza, acidez titulable, pH y solidos solubles totales a los días 0, 4, 8 y 12 de almacenamiento de los tratamientos.

### 5.3 Aplicación de Metil jasmonato (MeJA)

La aspersión de soluciones de MeJA se llevó a cabo bajo la metodología sugerida por Saavedra, *et al*; (2017), con ligeras modificaciones. Se elaboraron dos soluciones de MeJA de 50  $\mu\text{mol/L}$  y 100  $\mu\text{mol/L}$  utilizando 0,05% (v/v) de Tween-20 como agente surfactante en ambas soluciones. Para el grupo control se utilizó agua destilada con 0,05% (v/v) de Tween-20. La aplicación de las diferentes soluciones de MeJA y control se llevó a cabo por aspersión en los frutos.

#### 5.3.1 Estrategia experimental

Los frutos de zarzamora (36 *clamshell*) se dividieron en tres tratamientos. El tratamiento 1 fue el grupo control (frutos asperjados con agua destilada sin desinfectar y sin inoculación), tratamiento 2 (frutos asperjados con MeJA 50  $\mu\text{mol}$ , desinfectados e inoculados) y tratamiento 3 (frutos asperjados con MeJA, 100  $\mu\text{mol}$ , desinfectados e inoculados) (Figura 13).



**Figura 13.** Estrategia experimental para la aplicación de MeJA . Control (frutas sin la aplicación de MeJA), Tratamiento 1 o control (frutas asperjados con agua destilada, desinfectados e inoculados). Tratamiento 2 (frutas asperjados con MeJA 50 µmol, desinfectados e inoculados), Tratamiento 3 (frutas de flores asperjadas con MeJA 100 µmol, desinfectados e inoculados). Almacenados por 0, 4 y 8 días a 10 °C.

Para confirmar que el tratamiento no afecta los parámetros de calidad, se midieron las variables reversión de color, porcentaje de marchitez, color firmeza, acidez titulable, pH y sólidos solubles totales a los días 0, 4 y 8 de almacenamiento de los tratamientos.

#### 5.4 Inoculación de *Botrytis cinerea* en frutos de zarzamora

Las zarzamoros se lavaron con agua destilada, se desinfectaron con solución de hipoclorito de sodio al 2% durante 3 min; seguidos de dos lavados con agua destilada estéril y se eliminó el exceso de agua (Terrones-Salgado *et al.*, 2019).

La inoculación se realizó colocando un alícuota de 20  $\mu$ L de una suspensión de esporas de  $1 \times 10^5$  esporas/mL de *Botrytis cinerea* pre germinadas sobre cada fruta (Saito *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2014; Thole *et al.*, 2020).

#### 5.5 Evaluación de la incidencia de *Botrytis cinerea* (IBc)

La evaluación de la incidencia de *Botrytis cinerea* se realizó de manera visual, contando en cada *clamshell* el número de frutos con presencia o desarrollo de micelio gris. Los resultados se expresaron como porcentaje de frutos con presencia de *Botrytis cinerea* siguiendo los criterios sugeridos en la bibliografía (Terrones – Salgado *et al.*, 2019; Hernández-Martínez, 2019).

$$IBc = \frac{\text{número de frutos con micelo gris}}{\text{total de frutos en la muestra}} \times 100$$

#### 5.6 Incidencia de reversión de color (IRC)

La incidencia de reversión de color se evaluó de forma visual, considerando un fruto revertido aquel que tuviera más de cinco drupeolas revertidas (completamente rojas) del mismo fruto. Los resultados se expresaron como porcentaje de frutos con reversión de color, a partir de la siguiente fórmula (Lawrence *et al.*, 2018).

$$IRC = \frac{\text{número de frutos con reversion de color}}{\text{total de frutos en la muestra}} \times 100$$

### **5.7 Porcentaje de marchitez (IMCh)**

El porcentaje de marchitez se evaluó de manera visual, considerando como fruto marchito aquel que presentó 5 drupeolas marchitas dentro del mismo fruto. Las mediciones se realizaron de manera visual y se reportó como porcentaje de frutos marchitos.

$$IMCh = \frac{\text{número de frutos marchitos}}{\text{total de frutos en la muestra}} \times 100$$

### **5.8 Color**

Los valores de color CIEL\*a\*b\* se midieron en tres diferentes puntos de la zona ecuatorial de cada fruto usando un espectrofotómetro CM-600D, con los valores de a\* y b\* se estimaron los valores para el ángulo de matiz y cromaticidad que da la intensidad del color (Konica Minolta, Japón) utilizando un iluminante D65 y un ángulo de observación de 10° (Van de Velde *et al.*, 2020).

### **5.9 Firmeza**

La firmeza se determinó utilizando la metodología propuesta y estandarizada por el grupo de trabajo del Laboratorio de Fisiología y Bioquímica Poscosecha de Frutas y Hortalizas. En este método se utilizó un analizador de textura (Brookfield CT3 25K) con una sonda metálica de 36 mm de diámetro, la cual comprimió el 20% del diámetro máximo de la zarzamora sobre su eje ecuatorial a una velocidad de 2.0 mm/seg, una carga de activación de 0.06 N y tiempo de espera de 1 segundo. Los resultados fueron expresados como la fuerza necesaria (N) para comprimir el 20% del diámetro máximo del fruto.

### **5.10 Acidez titulable**

La acidez titulable se determinó empleando la metodología descrita en la AOAC (1990) con ciertas modificaciones. Se prepara un extracto acuso, se homogenizó

3.5 g de drupeolas y 35 mL de agua destilada utilizando un Ultra Turrax (T-25, IKA, Alemania) a 10,000 rpm y, se centrifugó ( $20.980 \times g \text{ min}^{-1}$ ) durante 15 minutos a 4 °C; el sobrenadante se filtró con manta cielo. Del extracto acuoso se tomó una alícuota de 1 mL y se diluyó en 9 mL de agua destilada y se tituló con NaOH 0.1 N hasta alcanzar un pH de  $8.2 \pm 0.2$ .

La acidez titulable se expresó como porcentaje de ácido málico en 100 g de muestra utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de acidez} = \frac{\text{Volumen NaOH} * N(\text{NaOH}) * \text{Vol. aforado} * \text{meq ácido málico} * 100}{\text{peso de la muestra}}$$

### **5.11 pH y Sólidos solubles totales (°Brix)**

En el extracto acuoso, se midió el pH usando un potenciómetro (HI 2213 pH/ORP meter, HANNA instruments) y se determinó el contenido de sólidos solubles totales (°Brix) utilizando un refractómetro digital (A. Krüss Optronic GmbH). El resultado se expresó como porcentaje de sólidos solubles totales (SST).

### **5.12 Extracción de compuestos fenólicos y antocianinas.**

Se preparó un extracto metanólico.

Se mezclaron 2,0 g de drupelas y 25 mL de una solución de disolvente solución de disolvente [metanol, agua y ácido fórmico (80:19,9:0,1)]; la muestra se homogeneizó a 10,000 rpm utilizando un Ultra Turrax (T-25, IKA, Alemania) y se centrifugó ( $20.980 \times g \text{ min}^{-1}$ ) durante 15 minutos a 4 °C; el sobrenadante se filtró con manta cielo.

### **5.13 Contenido de compuestos fenólicos totales**

El contenido de compuestos fenólicos totales se cuantificó empleando la metodología descrita por Singleton y Rossi (1965). El extracto metanólico se diluyó con el solvente de extracción (metanol) en una relación 1:8; se colocaron 7  $\mu\text{L}$  del

extracto diluido en cada pozo de la microplaca y se llevó a un volumen de 50 µL con agua destilada; se adicionó 25 µL de reactivo de Folín Ciocalteu (1N), y la reacción se mantuvo en reposo por 5 minutos en la oscuridad. Posteriormente se añadieron 125 µL de solución de carbonato de sodio Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20% p/v (este se preparó con agua grado HPLC) y se dejó reposar por 30 minutos protegiéndolos de la luz. Después se midió la absorbancia a 765 nm en un lector de microplacas (Mark<sup>TM</sup> Microplate Reader, BIO-RAD). Los cálculos se realizaron mediante el uso de una curva de calibración de ácido gálico (10 - 35 mg de concentración). Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico/100 g peso fresco.

#### **5.14 Perfil de compuestos fenólicos por HPLC**

El perfil de compuestos fenólicos de las muestras procedentes de los diferentes tratamientos, se realizó utilizando un sistema cromatográfico HPLC utilizando un equipo de Waters (Waters,USA), compuesto por una bomba cuaternaria Alliance e2695 y un detector PDA 2998. El control del sistema HPLC, la adquisición de datos y el procesamiento se realizaron mediante el software Empower3 (Waters, EE.UU.). Las separaciones cromatográficas se realizaron a través de una columna symmetry C-18 (5 µm, 150 mm x 4.6 mm), operada a 35 °C. El volumen de inyección del extracto fue de 30 µL de muestra que eluyeron con la fase móvil a una velocidad de flujo de 1 mL/min. La elución de compuestos se realizó empleando un gradiente de concentración de dos fases: 0.2% de ácido fórmico en agua (A) y acetonitrilo 100% grado HPLC (B), empleando un gradiente de polaridad (Cuadro 3). Los compuestos fenólicos se detectaron a longitudes de onda de 280 y 320 nm, y se realizaron lecturas por duplicado (Diaconeasa *et al.*, 2014).

La identificación presuntiva de compuestos fenólicos se realizó comparando el tiempo de retención de los picos con el tiempo de retención de estándares puros y corridos bajo las mismas condiciones cromatográficas y también por la comparación

de los espectros de absorción UV de los estándares puros con aquellos espectros de cada uno de los picos obtenidos de las muestras analizadas.

La cuantificación se realizó a través de curvas de calibración de ácido gálico (Anexo 1. Figura 35).

**Cuadro 3.** Gradiente de concentración de la fase móvil para la separación e identificación de ácidos fenólicos y flavonoides por HPLC. (A) agua destilada acidulada con ácido fórmico 0.2% y (B) acetonitrilo 100%

Tiempo (min)	%A	%B
0	90	10
8	85	15
15	80	20
20	75	25
30	70	30
35	60	40
40	50	50
45	20	80
50	10	90
55	85	15
60	90	10
65	90	10

## 5.15 Contenido de antocianinas

### 5.15.1 Contenido de antocianinas por HPLC

El perfil de antocianinas se determinó con un sistema HPLC (Water Alliance 2695 with Water 2998 diode array detector). La separación de los compuestos se realizó con una columna symmetry C-18 (9100 x 4.6 mm), la cual se mantuvo a 35 °C. Para la elución de las antocianinas se utilizó agua/ácido fórmico (99.9/0.01) (fase A) y acetonitrilo al 100% (fase B) con un flujo de 0.5 mL min<sup>-1</sup>. El gradiente de polaridad que se utilizó fue: 0 min, 5% B; 0-20 min, 20% B; 20-25 min, 40% B; 25-30 min, 5% B. Treinta µL de la muestra se inyectaron por duplicado. La detección de las antocianinas se realizó a 520 nm.

### 5.15.2 Antocianinas monoméricas

Las antocianinas monoméricas se determinaron utilizando el método de pH diferencial descrito por Giusti y Wrolstad (2001). Se utilizó un ensayo espectrofotométrico para cuantificar el contenido de antocianina monomérica. Se diluyeron quinientos microlitros de extracto de antocianina en 2,0 mL de tampón de cloruro de potasio (0,025 M, pH 1,0) o de tampón de acetato de sodio acetato de sodio (0,4 M, pH 4,5). Para cada solución, se registró un espectro de absorción (Lambda 365, Perkin Elmer, Inc., USA), de 400 nm a 700 nm.

La concentración de antocianinas se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Antocianinas (mg l}^{-1}\text{)} = (A * PM * FD * 100) / (\epsilon * 1)$$

Dónde: A es la absorbancia máxima obtenida a 700 nm: (A<sub>max-A700 nm</sub>) pH 1- (A<sub>max-A700 nm</sub>) pH 4.5; PM el peso molecular para cianidina (449.2 g mol<sup>-1</sup>) FD fue el factor de dilución,  $\epsilon$  fue el coeficiente de extinción molar (26900 g mol<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>) y 1 es la longitud de la trayectoria de la celda (1 cm).

## 5.16 Tratamiento de campos eléctricos pulsados (CEP)

### 5.16.1 Estrategia experimental

En el equipo utilizado no fue posible someter clamshells completos. Por ello todo el conjunto de frutos se dividió en seis subgrupos; un control (frutos sin tratamiento) y cinco subgrupos con diferentes condiciones de operación del equipo (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Condiciones de operación del equipo de campos eléctricos pulsados para cada uno de los cinco tratamientos (T1-T5).

	Control	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5
Voltaje (v)	0	10,000	7,500	5,000	10,000	10,000
Anchura ( $\mu$ s)	0	5	5	5	5	20
Frecuencia Hz	0	100	100	100	100	100
N° de pulsos	0	100	100	100	100	100
Distancia de electrodos (cm)	0	2.5	2.5	2.5	10	10
N° de frutos	0	5	5	5	25	25
Tiempo de aplicación de pulsos ( $\mu$ s)	0	500	500	500	500	2,500

#### 5.16.2 Aplicación de campos eléctricos pulsados

Para aplicar el tratamiento de campos eléctricos pulsados se utilizó un equipo EPULSUS-LPM1A-10. El generador proporcionó pulsos eléctricos en forma rectangular con una fuerza de pulso que variaron de 5,000 a 10,000  $Vcm^{-1}$ , un rango de sintonización de ancho de pulso de 5 - 200  $\mu$ s y un número de pulsos de 100. Los frutos se colocaron en la cámara paralela de dos electrodos (Wu *et al.*, 2020), se les aplicó el tratamiento de CEP, posteriormente los frutos fueron retirados del equipo eliminando el exceso de agua. Se colocaron nuevamente en los *clamshells* y se almacenaron dos días a 21 °C.

### **5.17 Diseño experimental**

Se realizó un diseño completamente al azar con 3 réplicas con mediciones repetidas en el tiempo para cada tratamiento. Para el experimento para evaluar el efecto del MeJA se colocó un control y dos tratamientos, cada uno con tres repeticiones para cada día de evolución de variables a medir , dando un total de 36 unidades experimentales. En el experimento de AM se tuvieron dos controles ( positivo y negativo) y un tratamiento, con tres repeticiones para cada día de mediciones de variables evaluadas , dando un total de 36 unidades experimentales. Para el experimento para evaluar el efecto de CEP, se colocó un control y 5 tratamientos con tres repeticiones para cada día de mediciones de variables, dando un total de 36 unidades experimentales. Los datos fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, en el cual tenía el factor tratamiento y el factor días de almacenamiento, así como la respectiva interacción. Cuando se encontraron diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre los tratamientos, se realizó una prueba post hoc Tukey HSD. Todos los análisis estadísticos se realizaron en el programa estadístico JMP.10.

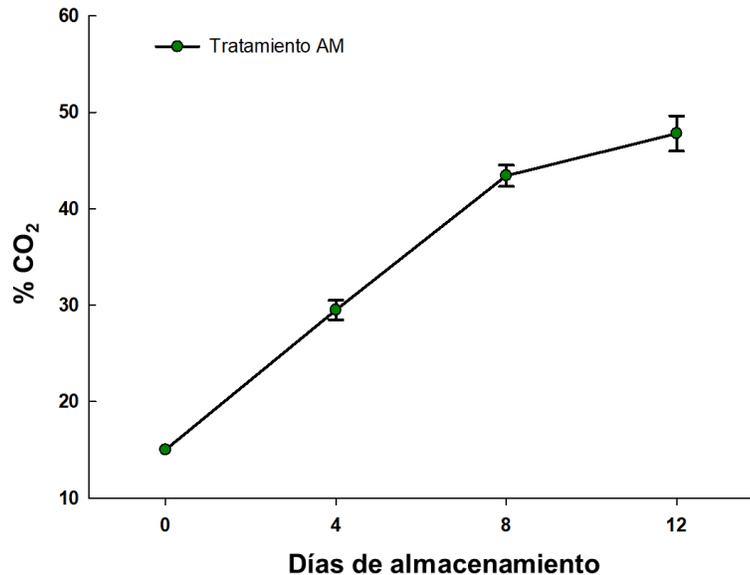
## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio serán presentados y discutidos de acuerdo a las tres estrategias analizadas y planteadas en la metodología para el control de la *Botrytis cinerea* en zarzamora cv 'Sultana'

### 6.1 Experimento de atmósferas modificadas activas

#### 6.1.1. Cambios en la composición de la atmósfera modificada interna durante el almacenamiento.

En la metodología general se expresó que la aplicación de las atmósferas modificadas activas se llevó a cabo colocando individualmente los clampshells de cada tratamiento en una bolsa de plástico (Foodsaver, Oster); haciendo vacío e inmediatamente inyectando la mezcla de 15 % de CO<sub>2</sub> + aire y finalmente almacenando a 10 °C. De manera lógica, la fruta en un ambiente cerrado consumió carbohidratos y oxígeno y generó CO<sub>2</sub> como producto de la respiración. Por ello el CO<sub>2</sub> producido por la fruta incrementó de manera significativa el contenido de este gas en cada uno de los empaques (Figura 14).



**Figura 14.** Cambios en el contenido de CO<sub>2</sub> en la atmósfera interna de las bolsas de plástico (Foodsaver, Oster) con AM activa (15 % CO<sub>2</sub> + aire) conteniendo clamshells de zarzamora ‘Sultana’ almacenados a 10 °C.

Después de 4 días de almacenamiento a 10 °C, la concentración de CO<sub>2</sub> en los empaques fue de  $29.5 \pm 1.4$  % el cual fue significativamente diferente a la concentración inicial (15 %) y a las concentraciones registradas en los días 8 ( $43.4 \pm 1.4$ ) y 12 ( $47.8 \pm 1.4$ ). La acumulación de este gas siguió un comportamiento exponencial. Por ello los contenidos de CO<sub>2</sub> en los días 8 y 12 no fueron estadísticamente diferentes y la concentración tendió a estacionarse dentro de valores entre 45 a 55 %. Es muy probable que durante el almacenamiento y después de 4 días se dio un cambio de respiración aerobia a respiración anaerobia con sus posibles efectos en la calidad de la fruta.

En base a estas observaciones, los resultados de la presente investigación se centraron en los efectos observados a los 4 días de almacenamiento para evitar los efectos de las altas concentraciones de CO<sub>2</sub> observadas a los 8 y 12 días.

Este trabajo planteó hacer la experimentación a 10 °C para lograr observaciones más rápidas de los efectos de las AM activas en el desarrollo de *B cinérea* y en los factores de calidad.

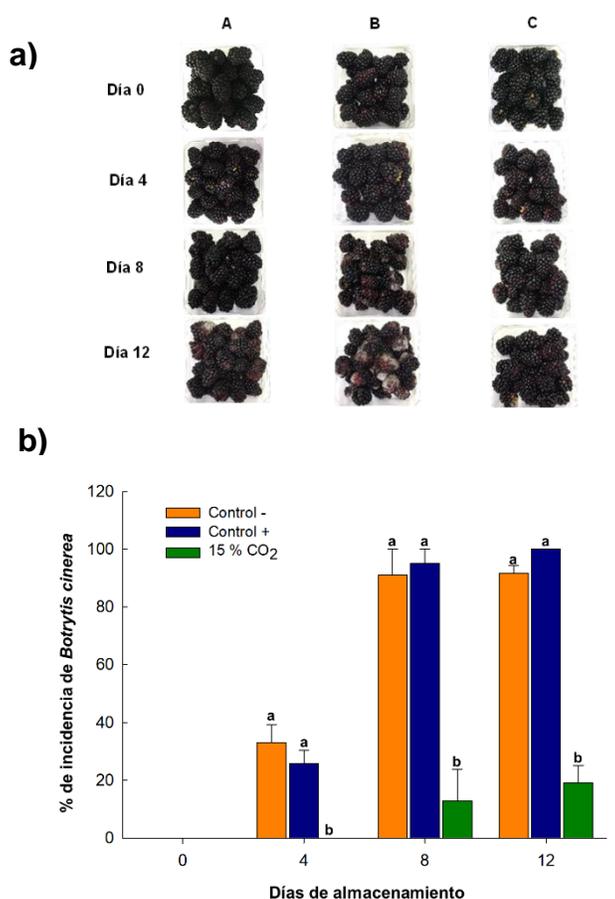
Lo anterior está soportado por las observaciones de Soethe *et al.*, (2019) quienes señalaron una tasa de respiración de zarzamora 'Tupy' almacenada en AM pasiva 2.5 veces mayor a 10 °C respecto de la registrada a 0 °C. De igual forma Mitcham *et al* (1998), también señalan que la tasa de respiración de zarzamora a 10 °C es 2.9 veces mayor que la registrada a 0 °C y que la temperatura óptima de conservación de esta fruta es de 0 °C.

De acuerdo con lo anterior, se consideró que el análisis de datos sobre los efectos del tratamiento de AM en el control de *B. cinerea* y calidad de fruta deberían ser aquellos registrados a los 4 días de almacenamiento a 10 °C y tomando en cuenta que la tasa metabólica a 0 °C es 2.5-2.9 veces menor (Mitcham *et al.*, 1998 y Soethe *et al.*, 2019); se podría predecir un potencial de almacenamiento a 0 °C de 10-12 días el cual es similar al potencial de almacenamiento comercial

#### 6.1.2 Efecto de las atmósferas modificadas en la incidencia de *Botrytis cinerea*

La evaluación del efecto de la atmósfera modificada en la incidencia de *B. cinerea* en los frutos de zarzamora, se realizó mediante una inspección visual de los frutos inoculados con el hongo y almacenados en atmósfera modificada (15 % de CO<sub>2</sub> + aire), y se comparó con un control positivo (fruta desinfectada y almacenada en condiciones atmosféricas normales: oxígeno 20,98% y CO<sub>2</sub> 0,04%); y un control negativo (fruta de campo). Al inicio del almacenamiento, ningún tratamiento mostró la presencia de *B. cinerea*; en el día 4, los controles positivo y negativo mostraron la presencia de micelio gris en el 33% y 26% de los frutos, respectivamente; mientras que en los frutos del tratamiento de atmósferas modificadas no se observó incidencia de *B. cinérea* (Figura 15). De acuerdo a lo señalado en la sección anterior, este resultado sugiere que si esta atmósfera se utiliza bajo una temperatura

de 0 °C, el control de este patógeno debe mantenerse durante 10 -12 días de almacenamiento; aunque esto debe confirmarse posteriormente. Después de 8 días de almacenamiento, se observó una alta incidencia de *B. cinérea*, (más del 90% de los frutos de los controles positivo y negativo) respecto a los frutos del tratamiento de atmósferas modificadas donde se observó una menor incidencia del hongo (13 %). Este comportamiento se mantuvo hasta el día 12, en el cual, los controles mostraron elevada presencia de *B. cinerea* (91 y 100 %) a diferencia de los frutos almacenados en atmósferas modificadas (19 %). No obstante, estos resultados deben de ser considerados con cierto cuidado y no necesariamente como efecto de la presencia de la AM ya que en este tratamiento se tuvieron altas concentraciones de CO<sub>2</sub> y pudieron existir otros factores metabólicos (posibles fermentaciones) que pudieron afectar los resultados.



**Figura 15. a)** Cambios visuales de la incidencia de *Botrytis cinerea* en frutos de zarzamora, almacenados por 4-12 días a 10 °C. Control negativo (fruta de campo) **A.** Control positivo (fruta desinfectada, almacenada en aire) **B.** Tratamiento en AM (desinfección, inoculación y 15 % de CO<sub>2</sub>) **C.** **b)** Cambios en la incidencia de *Botrytis cinerea*, durante el almacenamiento a 10 °C, con la aplicación de 15 % de CO<sub>2</sub>.+ aire Las barras verticales representan el error estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

Estos resultados indican que el tratamiento de atmósferas modificadas es efectivo para inhibir la presencia de *B. cinérea* en zarzamoras almacenadas durante 4 días a 10°C y tiene capacidad de reducir aproximadamente 6 veces la presencia del hongo en muestras almacenadas durante 8 y 12 días a 10°C.

Estos resultados demuestran que la aplicación del tratamiento de atmósferas modificadas es una alternativa viable para controlar la presencia del hongo durante la cadena de comercialización. En este estudio, los frutos se almacenaron a 10 °C para acelerar el proceso de deterioro, si los frutos se hubiesen almacenado de 0-1 °C (temperatura óptima de almacenamiento de la zarzamora) la incidencia del hongo se hubiese retrasado más. Bajo las condiciones de AM con 15 % de CO<sub>2</sub> + aire el potencial de almacenamiento seguramente rebasa los 15 días.

En otros estudios con zarzamora cv 'Black Stain' almacenada bajo corrientes de aire con alto oxígeno (90% O<sub>2</sub> +10 % de CO<sub>2</sub>) durante 18 días a 5 °C Van de Velde *et al.*, (2020), observaron una disminución en la tasa de crecimiento de bacterias y disminución de las poblaciones de hongos. Por su parte Perkins-Veazie y Collins, (2002), también trabajando con zarzamoras Arapaho y Navaho bajo corrientes de una mezcla de 15 % de CO<sub>2</sub> + 10 % de O<sub>2</sub> a 2 °C, reportaron una incidencia de pudriciones del 16 %. En este estudio y dado que las muestras de zarzamora cv 'Sultana' fueron inoculadas con un cultivo puro de *B. cinerea*, mostramos que la aplicación de las AM activas de aire con 15 % de CO<sub>2</sub> controla el crecimiento de este patógeno incluso bajo condiciones de abuso de temperatura (10 °C) lo cual muestra una ventaja del uso de estas AM.

El beneficio de cambiar la composición atmosférica durante el almacenamiento para reducir las podredumbres ocasionadas por hongos ha sido mostrada en varios tipos de frutos, Ozkaya *et al.*, en el 2009 reportaron que el empaque de fresa en AM pasiva (uso de una bolsa Stetpack) almacenados por 5 días a 0°C redujeron en un 50 % la incidencia de pudriciones respecto del grupo control. Daniels *et al.*, (1985) anotó que los efectos específicos de las atmósferas ricas en CO<sub>2</sub> para el control de crecimiento de los microorganismos se puede asociar a tres mecanismos i) exclusión del oxígeno ambiental lo cual inhibe la tasa de crecimiento de los microorganismos, ii) la facilidad con que el CO<sub>2</sub> penetra las membranas celulares incrementando las posibles interferencias con el metabolismo celular y iii) el CO<sub>2</sub> es capaz de generar una rápida acidificación del pH celular con el consecuente efecto

sobre diferentes rutas metabólicas . Recientemente Li *et al.*, (2022) observaron en experimentos con atmósferas controladas de 10 % de O<sub>2</sub> y 20 o 30 % de CO<sub>2</sub> un fuerte efecto inhibidor del crecimiento de *Botrytis cinerea* en fresa e indicaron que este efecto podría estar asociado a una supresión directa del crecimiento del hongo por las altas concentraciones de CO<sub>2</sub>.

Las altas concentraciones de CO<sub>2</sub> alcanzadas en nuestros experimentos, después de los 4 días de almacenamiento en la AM activa, parecen señalar que también se presentó un efecto inhibitorio del crecimiento del hongo en los frutos de zarzamora.

### 6.1.3 Cambios en la calidad del fruto

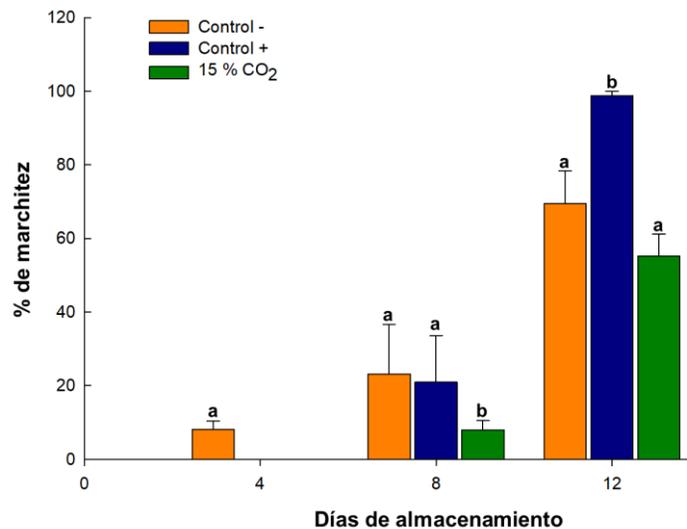
Para estimar en que medida el tratamiento de atmósferas modificadas, además de inhibir el desarrollo de *B. cinerea*, mantenía la calidad de los frutos; se evaluó los parámetros de marchitez y reversión de color a través de una inspección visual y comparación de los frutos control con los frutos tratados con AM. También se evaluó de manera objetiva el color y la firmeza de los frutos conforme se indicó en la metodología.

#### 6.1.3.1 Marchitez de frutos

La marchitez se presenta cuando las drupeolas se deshidratan, perdiendo la mayor parte de su contenido de agua.

Todos los frutos de todos los tratamientos iniciaron el almacenamiento sin signos evidentes de marchitez; no obstante en el día 4, los frutos del control negativo (frutos de campo) mostraron un mayor porcentaje de marchitez (8%), respecto de los frutos del control positivo o tratados con atmósferas modificadas los cuales no mostraron signos de marchitez. Después de 8 días de almacenamiento, los frutos tratados con AM solo presentaron 8% de marchitez, en comparación con los controles positivo y negativo, los cuales alcanzaron 23 y 21% de marchitez,

respectivamente. Después de 12 días de almacenamiento, los frutos de los dos controles presentaron 69 y 99 %, respectivamente en comparación de los frutos tratados con AM que mostraron un 55 % de marchitez un valor estadísticamente menor que los controles (Figura 16). Por lo anotado en la sección de incidencia de *Botrytis cinerea* y considerando solo los resultados a los 4 días de almacenamiento, se puede indicar que este tratamiento no induce marchitez a 10 °C y que se espera que tampoco se presente en en periodo de 10 a 12 días si se almacenaran los frutos entre 0-1 °C



**Figura 16.** Efectos de la aplicación de AM (15 % de CO<sub>2</sub> + aire) en la marchitez de frutos de zarzamora almacenados 12 días a 10 ° C. Control negativo (fruta de campo), control positivo (fruta desinfectada, almacenada en aire), tratamiento de AM (desinfección, inoculación y AM 15 % de CO<sub>2</sub>) . Las barras verticales representan el error estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos.

Estos resultados muestran que el tratamiento de atmósferas modificadas y desinfección de los frutos fue efectivo para disminuir la marchitez de frutos de zarzamora almacenadas durante 4 días a 10°C demostrando que la aplicación de AM activas y la desinfección son una alternativa para conservar la calidad de la zarzamora.

Nuestros resultados parecen ser confirmados por los trabajos de Brackmann *et al.*, (2016) quienes mostraron que la aplicación de atmósferas controladas (AC) con 5 % CO<sub>2</sub> + 15 % CO<sub>2</sub> en aire en frutos de zarzamora “Tupy”, almacenadas a 1°C durante 12 días observaron una menor pérdida de peso respecto de los frutos control (frutos almacenados en aire). Esto señala que la aplicación de una tecnología más sencilla en su aplicación, como las AM utilizadas en este estudio, mantienen baja la marchitez de los frutos. Fagundes *et al.*, (2015) realizaron estudios en tomate Cherry almacenados a 5 °C por 12 días, en atmósferas modificadas (5 % O<sub>2</sub> +5 % CO<sub>2</sub> en aire), observando también una menor pérdida de peso. La marchitez de los frutos está relacionada con la pérdida de peso; esta pérdida de peso está estrechamente relacionada con el metabolismo del fruto (Maguire *et al.* 2000). Forney en el 2008 reportó que mantener una humedad relativa alta (95% o más) durante el almacenamiento de arándano minimiza la pérdida de peso y la marchitez del fruto. Estos datos sugieren que además de la aplicación de las AM activas se debe mantener una alta humedad relativa durante el almacenamiento.

#### 6.1.3.2 Efectos sobre la firmeza de los frutos

La firmeza uno de los principales parámetros de calidad, está asociada con la resistencia mecánica de los frutos y por tanto con la resistencia al manejo mecánico dentro del sistema de manejo poscosecha. También nos informa del proceso de ablandamiento durante la maduración del fruto, y una menor firmeza se relaciona directamente con la susceptibilidad al ataque de patógenos o infección microbiana y a la disminución de la vida de anaquel (Handa *et al.*, 2011). Por ello, este parámetro es muy importante para el acceso a los mercados y para la aceptabilidad del consumidor.

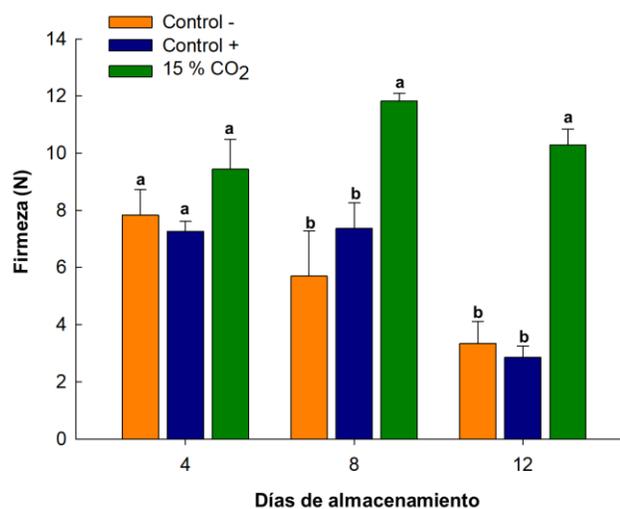
Después de 4 días de almacenamiento a 10 °C, el tratamiento de atmósferas modificadas activas con 15 % de CO<sub>2</sub> + aire mostró valores de firmeza estadísticamente iguales a los registrados por el control negativo y positivo (9.4, 7.8

y 7.3 N respectivamente) (Figura 17). Aunque en el día 8 de almacenamiento, los controles positivo y negativo mostraron menor firmeza (7.4, 5.7 N respectivamente) en comparación con el tratamiento de AM 11.8 N. Esta tendencia se mantuvo hasta el día 12 de almacenamiento, en el cual los controles negativo y positivo presentaron los valores más bajos de firmeza (3.3 y 2.9 N respectivamente) respecto del tratamiento de AM (10.3 N).

A lo largo del almacenamiento, se observó una tendencia decreciente en la firmeza en los frutos control (positivo y negativo) por otro lado, los frutos tratados con AM mantuvieron altos sus valores de firmeza (Figura 17).

Ledesma-Valladolid (2019) en sus estudios sobre el efecto de dos atmósferas controladas (15 %CO<sub>2</sub> +10%O<sub>2</sub> y 15 %CO<sub>2</sub> + 5 %O<sub>2</sub>) aplicadas por 3 y 7 días en zarzamora 'Tupy' también observó una mayor firmeza en los frutos tratados con dichas atmósferas, lo cual asoció con menores actividades enzimáticas de poligalacturonasa y celulasa. Esto sugiere que la AM aplicada, también altera el metabolismo de la pared celular manteniendo la firmeza de los frutos

Otros datos de la literatura, también muestran que la aplicación de atmósferas controladas de 20 y 30 % de CO<sub>2</sub> en fresas almacenada a 5 °C mantuvieron su firmeza durante su almacenamiento (Li *et al.*, 2022). Dado que la firmeza está asociada al metabolismo de la pared celular en particular a los cambios en los polisacáridos y proteínas de la pared celular causadas por la poligalacturonasa y la pectinmetilesterasa (Handa *et al.*, 2012), el mantener la firmeza en los frutos sugiere que las AM reducen la actividad de esas enzimas. También es posible que mantener la firmeza de los frutos podría estar relacionado con la menor pérdida de peso y mayor turgencia de las células (Fagundes *et al.*, 2015; Cortellino *et al.*, 2015).



**Figura 17.** Cambios en la firmeza en frutos de zarzamora, almacenados durante 4-12 días a 10 °C , con la aplicación de 15 % de CO<sub>2</sub> . Control negativo (fruta de campo), control positivo (fruta desinfectada, almacenada en aire), tratamiento de AM (desinfección, inoculación y 15 % de CO<sub>2</sub>) . Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

Estos datos muestran que el tratamiento de atmósferas modificadas (15% de CO<sub>2</sub> + aire) en frutos de zarzamora almacenados a 10 °C por 4 días mantuvo la firmeza además de reducir la incidencia de *B. cinérea*.

#### 6.1.3.3 Acidez titulable y sólidos solubles totales

Los parámetros de acidez titulable y sólidos solubles totales están relacionados con el sabor de la fruta y son indicador general del metabolismo respiratorio del producto. De forma general el contenido de sólidos solubles totales no mostró cambios estadísticos significativos entre los frutos tratados con AM activas respecto de los frutos de campo y desinfectados e inoculados con *B. cinérea* y solamente se observó un menor contenido en el día 8 para los frutos tratados con AM (Cuadro 5). No obstante, el contenido de acidez titulable fue disminuyendo conforme transcurrió el periodo de almacenamiento; en el día 12, se registraron los menores valores de

acidez y estos fueron estadísticamente diferentes de los demás tratamientos y días de almacenamiento. En el día 0 y 4, no se registraron diferencias de acidez entre todos los tratamientos ni en ambos periodos de almacenamiento. Estos datos indican que la aplicación de las AM por cuatro días no afectó estos parámetros. No obstante, cuando el almacenamiento se prolongó por 8 o 12 días los contenidos de acidez disminuyeron en todos los tratamientos sugiriendo una disminución del ciclo de los ácidos tri carboxílicos de la respiración.

Los estudios de Ledesma – Valladolid (2019), también señalaron pocos cambios en los contenidos de sólidos solubles y acidez en zarzamora ‘Tupy’ sometidas a atmósferas controladas de 15% CO<sub>2</sub> +10% o 5 % de Oxígeno por 3 o 7 días. No obstante, después de dichos periodos de exposición y cuando los frutos fueron transferidos a atmosferas de aire, este autor indico una significativa reducción de los sólidos solubles y acidez. Los resultados de este trabajo a los días 8 y 12 mostraron una disminución significativa de la acidez, pero no en el contenido de solidos solubles. Las altas concentraciones de CO<sub>2</sub> alcanzadas en los empaques en esos periodos de almacenamiento, seguramente alteran el metabolismo de los ciclos respiratorios provocando la inhibición del ciclo de Krebs y facilitando la respiración anaeróbica y la producción de CO<sub>2</sub>. Por ello y para evitar esas alteraciones en los ciclos respiratorios, los resultados aquí descritos, sugieren el uso de la AM activa por solo 4 días de exposición.

Los estudios de Brackmann *et al.*, (2016) de aplicación de 3 distintas AC (5% O<sub>2</sub> + 15% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub> + 10% CO<sub>2</sub> y 10% O<sub>2</sub> + 10% CO<sub>2</sub>) en zarzamora cv “Guaraní” de Brasil, durante 12 días, indicaron una reducción significativa en los sólidos solubles totales en atmósferas de 10% O<sub>2</sub> + 10% CO<sub>2</sub>. La comparación de los datos aquí señalados con lo indicado por estos autores sugiere que el mantener el oxígeno disponible en el ambiente induce el desarrollo de los ciclos normales de respiración, lo cual probablemente no ocurrió o se vio frenado en nuestro sistema de AM estudiada.

Este comportamiento también coincide con lo observado en otras investigaciones con otro tipo de fruta; Ozkaya *et al.*, (2009) al aplicar AM pasivas en frutos de fresa durante 5 y 10 días de almacenamiento a 0 °C; no observaron cambios significativos en los contenidos de sólidos solubles totales y acidez a los 5 días de almacenamiento pero estos disminuyeron después de 10 días. Llamando la atención que después de 5 días de almacenamiento, el contenido de glucosa disminuyó 28 % y el contenido de sacarosa y fructosa se mantuvieron. Estos datos sugieren que el metabolismo de azúcares durante la respiración sufre cambios que no se observan en el contenido de sólidos solubles y acidez y que el suministro de los azúcares para la respiración puede estar suministrado por diferentes polisacáridos diferentes al almidón y que están presentes en el fruto de zarzamora (Duo *et al.*, 2021).

**Cuadro 5.** Comparación general de medias de acidez titulable (AT) y ° Bx en frutos de zarzamora, almacenados de 4-12 días a 10 ° C. con la aplicación de AM (desinfección, inoculación y 15 % de CO<sub>2</sub>), Control negativo (fruta de campo), control positivo (fruta desinfectada, almacenada en aire). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p< 0.05).

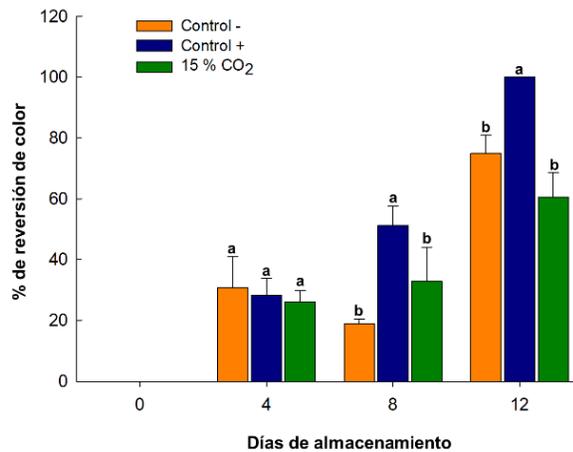
	Día	Control -	Control +	15 % CO <sub>2</sub>
% AT	0	1.089 ± 0.028 <sup>a</sup>	1.015 ± 0.181 <sup>a</sup>	1.132 ± 0.050 <sup>a</sup>
	4	1.007 ± 0.107 <sup>a</sup>	1.048 ± 0.150 <sup>a</sup>	1.024 ± 0.075 <sup>a</sup>
	8	0.721 ± 0.014 <sup>bc</sup>	0.647 ± 0.111 <sup>bcd</sup>	0.745 ± 0.093 <sup>b</sup>
	12	0.557 ± 0.051 <sup>cd</sup>	0.516 ± 0.043 <sup>d</sup>	0.532 ± 0.148 <sup>d</sup>
% ° Brix	0	13.848 ± 1.571 <sup>ab</sup>	14.422 ± 1.288 <sup>a</sup>	13.200 ± 1.100 <sup>ab</sup>
	4	13.444 ± 0.423 <sup>ab</sup>	13.689 ± 1.882 <sup>ab</sup>	13.322 ± 1.882 <sup>ab</sup>
	8	14.056 ± 0.923 <sup>a</sup>	14.300 ± 0.367 <sup>a</sup>	11.825 ± 1.527 <sup>b</sup>
	12	14.178 ± 1.882 <sup>a</sup>	13.078 ± 1.482 <sup>ab</sup>	12.833 ± 0.635 <sup>ab</sup>

#### 6.1.3.4 Incidencia de reversión de color

La variedad 'Sultana' estudiada en este trabajo es una variedad susceptible a la reversión de color (Figura 18). Por ello la reversión de color de la fruta de campo (control -) y la desinfectada e inoculada (Control +) incrementaron sus valores de reversión de color durante el almacenamiento así como también lo hicieron los frutos tratados con las atmósferas modificadas; no obstante el Control + mostró los mayores incrementos de reversión de color respecto de los mostrados por el control - y los tratados con las AM las cuales fueron similares entre sí (Figura 19). Estos datos indicaron que la manipulación de desinfección e inoculación y el almacenamiento sin las AM induce una mayor reversión de color y también señaló que la aplicación de AM a frutos desinfectados e inoculados con *Botrytis cinerea* no disminuyó la reversión, pero tampoco la incrementó.



**Figura 18.** Incidencia de reversión de color en frutos de zarzamora cv 'Sultana' procedente de campo sin tratamiento (Control -); desinfectados e inoculados (Control +) y desinfectados e inoculados y tratados con AM activas (15% CO<sub>2</sub> + aire) almacenados por 0, 4, 8 y 12 días a 10 ° C.



**Figura 19.** Porcentaje de frutos con eversión de color en frutos de zarzamora, almacenados durante 12 días a 10 ° C en frutos desinfectados e inoculados y tratados en AM activa (15 % de CO<sub>2</sub> + aire) en comparación con fruta de campo sin desinfectar y sin inocular (Control -) y desinfectadas e inoculadas (Control +). Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

Los frutos del control negativo no fueron sometidos a un tratamiento previo de desinfección e inoculación, por tanto, no estuvieron expuestos a daño mecánico durante este proceso; se ha establecido que el daño mecánico es la principal causa que genera la reversión de color en los frutos de zarzamora (Perez-Perez, et. al., Flores-Sosa *et al.*, 2021 y Flores-Sosa *et al.*, 2022). Las muestras de zarzamora manipuladas en este experimento no fueron sometidas a vibración, pero la manipulación de desinfección e inoculación no parece inducir daños en los frutos hasta el día 4 de almacenamiento. Después de 8 y 12 días de almacenamiento se presentó mayor reversión en los frutos del control +, posiblemente por ingreso de agua al interior de los tejidos y cambios en la presión osmótica que alteraron la funcionalidad de las membranas. No obstante, para esos días de almacenamiento, los frutos tratados con AM no incrementaron la reversión de color, este efecto posiblemente este asociado a los cambios de pH intracelular que provoca la disolución de CO<sub>2</sub> en el medio acuso intracelular. A este respecto, Holcroft & Kader,

(1999) observaron en frutos de fresa sometidos a atmósferas controladas de 2 y 0.5 % de O<sub>2</sub> en combinación con 20 % de CO<sub>2</sub> por 10 días a 5 °C que los contenidos de acidez titulable disminuyeron y se incrementaron los valores de pH; lo cual estuvo asociado a un menor cambio en la luminosidad de los frutos aunque el contenido de antocianinas disminuyó después de 12 días de almacenamiento.

Estos resultados indican que el tratamiento de AM aplicado por cuatro días a 10 °C no alteró el comportamiento de la reversión de color y se mantuvo a los mismos niveles que los frutos sin tratamiento o de campo. Dado que el tratamiento de atmósfera modificada no alteró la reversión de color en 4 días a 10 °C y controló la incidencia de *Botrytis cinerea*; este tratamiento puede ser aplicado para limitar el crecimiento del hongo sin afectar la reversión de color si se almacenara el fruto a 1 °C

#### 6.1.3.5 Cambios en el color de los frutos

El color de la zarzamora es un factor de calidad muy importante pues afecta la apariencia del producto y por ello la comercialización del fruto. Por ello es importante estimar y evaluar los efectos de los procedimientos tecnológicos en el color de la fruta. Este factor se evaluó mediante dos procedimientos; la medición objetiva de los parámetros de color a través de la escala internacional del color CIELab utilizando un equipo de reflectancia que registra las coordenadas de color a\* (verde valores negativos, rojo valores positivos), b\* (amarillo valores positivos, al azul valores negativos) y L\* o luminosidad (valores cercanos al 0 oscuros y valores de 100 blancos o brillantes). Con ellos se define un espacio de color (de tres coordenadas L\*a\*b\*) en el que se ubica el color del alimento mediante el ángulo de matiz o hue (arco tangente de b\*/a\*) y el croma o cromaticidad o distancia desde el centro del espacio del color ( $C^* = \sqrt{a^2 + b^2}$ ). El otro procedimiento de evaluación fue mediante el registro de imágenes que permitieran estimar los cambios de color de forma subjetiva

El análisis de varianza de los parámetros de color mostró efectos altamente significativos de los tratamientos, los días de almacenamiento y de la interacción tratamiento\*día en los valores de  $b^*$  y  $L^*$  y no se observaron efectos significativos del tratamiento en los valores de  $a^*$ , hue y  $C^*$  aunque si se observaron efectos significativos del factor día de almacenamiento (Cuadro 6). La comparación de medias de los valores de  $b^*$  y  $L^*$  señaló que el tratamiento Control + mostró los valores más altos de  $b^*$  y  $L^*$  que los mostrados por los frutos de campo o Control – y por los tratados con AM (Cuadro 7); la comparación de medias de estos mismos valores dentro de los diferentes días de almacenamiento indicó valores altos de  $b^*$  el día 12 y el valor más alto de  $L^*$  se registró el día 4.

**Cuadro 6.** Valores de probabilidad o significancia estadística del análisis de varianza de los parámetros de color de muestras de zarzamora sometidas a AM comparada con los controles en diferentes días de almacenamiento a 10 °C.

Valor de color	factor	Valor F	Probabilidad
$a^*$	Tratamiento	2.7996	0.0637
	Día	25.1985	<.0001
	Tratamiento*día	1.0492	0.3954
$b^*$	Tratamiento	7.7583	0.0006
	Día	18.8390	<.0001
	Tratamiento*día	5.6545	<.0001
$L^*$	Tratamiento	10.6452	<.0001
	Día	37.9691	<.0001
	Tratamiento*día	10.6530	<.0001
Hue	Tratamiento	0.7175	0.4894
	Día	1.1850	0.3171
	Tratamiento*día	3.9930	0.0009
$C^*$	Tratamiento	0.9426	0.3917
	Día	16.4064	<.0001
	Tratamiento*día	1.5450	0.1664

**Cuadro 7.** Comparación estadística de medias de los efectos de los factores Día, Tratamiento y la interacción día\*tratamiento en los valores de color b\* y L\* de zarzamora almacenada por 0, 4, 8 y 12 días a 10 °C. Sin desinfección ni inoculación (Cont -), desinfectadas e inoculadas (Cont +) y tratadas en AM activa con aire+15 %CO<sub>2</sub> (AM) (Tukey p<0.05).

Día	b*	L*	tratamiento	b*	L*
0	0.87 <sup>b</sup>	22.32 <sup>b</sup>	Cont-	0.85 <sup>b</sup>	22.11 <sup>b</sup>
4	0.25 <sup>b</sup>	27.31 <sup>a</sup>	Cont +	1.65 <sup>a</sup>	24.53 <sup>a</sup>
8	0.60 <sup>b</sup>	22.36 <sup>b</sup>	AM	0.62 <sup>b</sup>	23.50 <sup>a</sup>
12	2.45 <sup>a</sup>	21.53 <sup>b</sup>			
Tratamiento*día					
Cont-*0	0.20 <sup>bc</sup>	20.43 <sup>cd</sup>			
Cont+*0	1.098 <sup>b</sup>	22.22 <sup>bcd</sup>			
AM*0	1.32 <sup>b</sup>	24.28 <sup>b</sup>			
Cont-*4	-0.95 <sup>c</sup>	22.96 <sup>bc</sup>			
Cont+*4	1.60 <sup>ab</sup>	30.33 <sup>a</sup>			
AM*4	0.09 <sup>bc</sup>	28.65 <sup>a</sup>			
Cont-*8	1.00 <sup>b</sup>	22.66 <sup>bc</sup>			
Cont+*8	0.77 <sup>c</sup>	22.37 <sup>bcd</sup>			
AM*8	0.05 <sup>bc</sup>	22.06 <sup>bcd</sup>			
Cont-*12	3.20 <sup>a</sup>	22.38 <sup>bcd</sup>			
Cont+*12	3.14 <sup>a</sup>	23.19 <sup>bc</sup>			
AM*12	1.03 <sup>b</sup>	19.02 <sup>d</sup>			

Los datos de comparación de medias de la interacción tratamiento\*día señaló que el día 12, los controles negativos y positivos tuvieron los valores más altos de b\* y valores bajos de L\*; el tratamiento de AM mostró valores de b\* intermedios y el valor más bajo de L\*; para el día 4, los tratamientos de AM y Control + mostraron los valores más altos de L\* y los más bajos de b\*. Estos datos señalan que el almacenamiento por 12 días alteró significativamente el color lo cual confirma los datos de reversión de color. Por otro lado, también estos datos confirman que el tratamiento de AM por cuatro días mantuvo valores de b\* similares a las muestras de todos los tratamientos en el día 0.

Los anteriores datos confirman que el tratamiento de AM por cuatro días no afectó drásticamente el color y por ello no altera su utilidad como una técnica para el control de *Botrytis cinerea*. Los efectos de las AM coinciden con lo reportado por Holcroft y

Kader (1999), quienes registraron valores de L\* ligeramente más altos en fresa almacenada en atmósfera de 2 y 0.5 % de O<sub>2</sub> y 20 % de CO<sub>2</sub>.

#### 6.1.4 Cambios en contenido de antocianinas

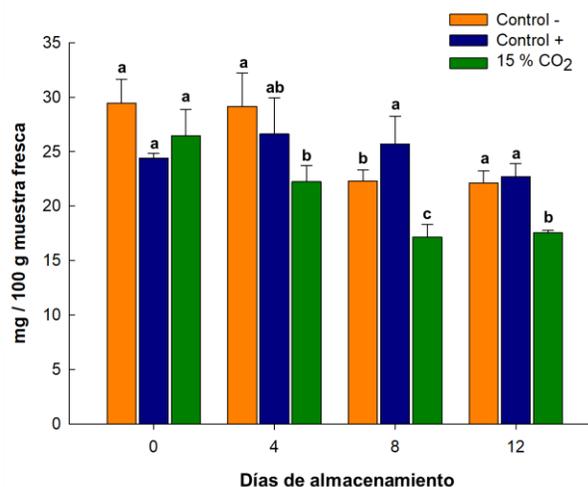
El contenido de antocianinas está relacionado con el color característico de los frutos y por tanto de su calidad visual. Se asume que el color negro de los frutos está asociado con el mayor contenido de estos compuestos y que si ocurre un cambio en el contenido de este componente seguramente estará asociado a un cambio de color. El análisis de varianza de los datos del contenido de antocianinas señaló que el factor día, tratamiento y la interacción tratamiento\*día tuvieron efectos significativos en el contenido de antocianinas (Cuadro 8).

El contenido de antocianinas fue mayor en los días 0 y 4 con valores estadísticamente iguales respecto de los registrados los días 8 y 12 que mostraron los valores más bajos y similares estadísticamente entre ellos. En cuanto al efecto de los tratamientos; tanto el control negativo como positivo mostraron los valores más altos respecto de los mostrados por el tratamiento de atmósfera modificada activa que señaló los valores más bajos (Cuadro 8).

De acuerdo con lo indicado anteriormente y de manera lógica; las interacciones atmósfera modificada, el Control – y el Control + en el día 0 y el Control – y Control + en el día 4 mostraron los contenidos más altos de antocianinas (26.63 a 29.47 mg/100g FF) mientras que la aplicación de atmósferas modificadas en el día 4 mostró contenidos de antocianinas estadísticamente más bajos (22.23 mg/100 g FF). A medida que trascurrieron los días de almacenamiento, los contenidos de este pigmento fueron disminuyendo, siendo el tratamiento de atmósferas modificadas el que más bajos contenidos mostró (Figura 20).

**Cuadro 8.** Comparación de medias de los efectos del periodo de almacenamiento, los tratamientos aplicados y la interacción tratamiento\*día en el contenido de antocianinas de zarzamora cv 'Sultana' durante su almacenamiento a 10 °C.

Día	Contenido antocianinas	Tratamiento*día	Contenido antocianinas
0	26.77 <sup>a</sup>	Cont- 0	29.47 <sup>a</sup>
4	26.00 <sup>a</sup>	Cont+ 0	24.41 <sup>ab</sup>
8	21.71 <sup>b</sup>	AM 0	26.43 <sup>ab</sup>
12	20.800 <sup>b</sup>	Cont- 4	29.14 <sup>a</sup>
Tratamiento		Cont+ 4	26.63 <sup>ab</sup>
Cont-	25.76 <sup>a</sup>	AM, 4	22.23 <sup>b</sup>
Cont +	24.86 <sup>a</sup>	Cont- 8	22.28 <sup>b</sup>
AM	20.84 <sup>b</sup>	Cont+ 8	25.71 <sup>ab</sup>
		AM, 8	17.14 <sup>c</sup>
		Cont- 12	22.14 <sup>bc</sup>
		Cont+ 12	22.69 <sup>bc</sup>
		AM, 12	17.57 <sup>bc</sup>



**Figura 20.** Cambios en el contenido de antocianinas totales en frutos de zarzamora, durante 12 días de almacenamiento a 10 ° C , con la aplicación de 15 % de CO<sub>2</sub>. Control negativo (fruta de campo), control positivo (fruta desinfectada e inoculada y almacenada en aire), tratamiento de AM (desinfección, inoculación y 15 % de CO<sub>2</sub>+ aire) . Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (p < 0.05).

La disminución en el contenido de antocianinas también ha sido reportado por otros autores, Van de Velde *et al.*, (2020) señaló una disminución del 10 al 15 % de cianidin 3 O glucosido en zarzamoras cv 'Black Stain' almacenadas a 5 °C bajo corrientes de mezclas de gases de 90 y 70 % de oxígeno en combinación con 10 y 20 % de CO<sub>2</sub>. Los datos obtenidos en el presente estudio a 10 °C muestran una disminución del 24 % que puede ser comparable con estos autores dada la diferencia de temperatura utilizadas en ambos trabajos.

Perkins-Veazy y Collins *et al.*, (2002), reportaron una disminución del contenido de antocianinas de un 11 al 18 % en las variedades 'Navaho' y 'Arapaho' respectivamente, después de 7 días de almacenamiento en atmósfera controlada de 15 % CO<sub>2</sub> + 10 % O<sub>2</sub> a 2 °C. En este trabajo, la disminución de estos pigmentos alcanzó el 24 % en 4 días de almacenamiento a 10 °C; asumiendo que a 10 °C debe haber una pérdida mayor, se puede señalar que las pérdidas de este pigmento son comparables a las observadas por esos autores. Los comportamientos de los contenidos de antocianinas en los frutos Control - y Control + no cambio en los primeros 4 de almacenamiento al igual que los resultados reportados por dichos autores.

Van de Velde *et al.*, (2019b) describieron los cambios en los perfiles de compuestos fenólicos y contenidos de antocianinas en frutos de fresa almacenadas a 5 °C durante 20 días, con atmósferas controladas de 20 % CO<sub>2</sub>, el contenido de antocianinas en los frutos se mantuvo constante hasta el día 10 de almacenamiento, pero después de ese tiempo, las antocianinas se degradaron en diferentes grados. Estos datos sugieren que la presencia de oxígeno en el aire, conserva los contenidos de antocianinas. Esto parece explicar por qué en el caso de la zarzamora con bajos contenidos de oxígeno pudieran propiciar la pérdida de estos pigmentos. No obstante, también estas respuestas pueden estar ligadas a la variedad como lo señalaron Joo *et al.*, (2011) en zarzamora cv 'Cankaska' y 'Chester' empacadas en envases de poliestireno y poli láctico orientados; señalando una disminución del 26 % de antocianinas después de 12 días de almacenamiento a 3 °C. No obstante, el

contenido de CO<sub>2</sub> dentro de los envases no superó el 2 % y el contenido de O<sub>2</sub> solo disminuyó de 21 a 19.3 %

La disminución de antocianinas en el tratamiento de CO<sub>2</sub> podría inducir la actividad de enzimas como glicosidasa y polifenoloxidasa, las cuales degradan la antocianina. La inestabilidad de las antocianinas se relaciona por un cambio de pH, con base en reacciones enzimáticas, mediante las cuales el pigmento es degradado debido a la enzima glicosidasa o polifenoloxidasa (Perkins y Collins 2002). No obstante, también es posible que a nivel celular se estén dando otros cambios además del pH que afecten la estabilidad del pigmento como lo señalan Holfcroft y Kader (1999).

## **6.2 Efectos de la aspersión de metil jasmonato en poscosecha para el control de *Botrytis cinerea*.**

Las aplicaciones de fitohormonas, en la planta completa o en partes de ella, tienen como objeto inducir respuestas que mejoren el funcionamiento de la misma o le induzcan respuestas que le ayuden a superar situaciones de estrés (Wang et. al., 2015 y Wang et. al., 2020). En este caso, se espera que la aplicación de MeJA induzca resistencia al ataque de *Botrytis cinerea*, de tal forma que se genere una estrategia sustentable con el medio ambiente para el control de esta enfermedad sin recurrir a los fungicidas

### **6.2.1 Efecto del metil jasmonato (MeJA) en la incidencia de *Botrytis cinerea*.**

El análisis de varianza general de los datos de incidencia de *Botrytis cinerea*, mostró efectos significativos de los tratamientos aplicados, (frutos de campo, frutos desinfectados y frutos desinfectados e inoculados y tratados con 50 y 100 µM de MeJA); almacenadas por 0, 4 y 8 días a 10 °C, y de todas sus interacciones (Cuadro 9, 10).

**Cuadro 9.** Pruebas de significancia estadística de los efectos de los diferentes factores y sus interacciones en la incidencia de *Botrytis cinerea* en frutos de zarzamora cv ‘Sultana’ almacenados por 0, 4 y 8 días a 10 °C.

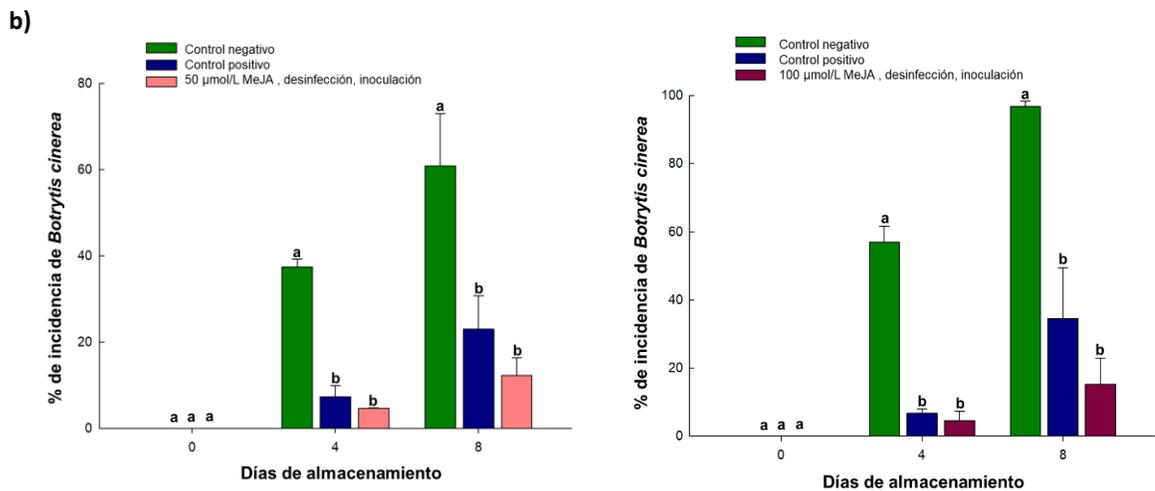
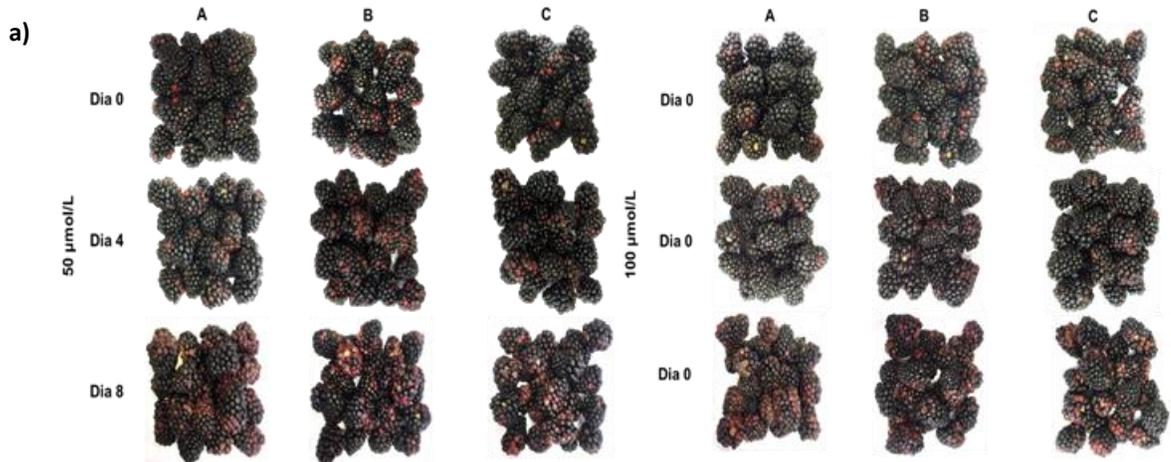
Tratamiento	N° param	Grados libertad	ΣCuadrados	Valor F	probabilidad
Tratamiento	2	2	13359.438	73.5307	<.0001
Concentración MeJA	1	1	800.415	8.8110	0.0053
Tratamiento*Conc	2	2	792.694	4.3630	0.0201
día	2	2	14690.005	80.8542	<.0001
Tratamiento*día	4	4	7449.504	20.5011	<.0001
Conc*día	2	2	649.321	3.5739	0.0384
Tratamiento*Conc*día	4	4	467.154	1.2856	0.2938

**Cuadro 10.** Comparación de medias de la incidencia de *Botrytis cinerea* en frutos de zarzamora cv ‘Sultana’.

Tratamiento*Conc de MeJA*día	% Incidencia
Control-,100,8	96.7a
Control-,50,8	60.9b
Control-,100,4	56.8b
Control-,50,4	37.4bc
Control+, 100, 8	34.5cd
Control+, 50, 8	22.9cde
Control+, 100, 4	6.8de
Control+ , 50, 4	7.3de
MeJA, 100, 8	15.1e
MeJA, 50, 8	12.2e
MeJA, 100, 4	4.6e
MeJA, 50, 4	4.6e

Al inicio del almacenamiento, ningún tratamiento mostró presencia de *B. cinerea*; sin embargo, en el día 4 el control negativo con 50 y 100  $\mu\text{M/L}$  de MeJA mostraron mayor presencia de micelio gris en los frutos (37 y 57 % respectivamente), en el control positivo la presencia del hongo fue menor (7%), seguido del tratamiento con metil jasmonato en un 5 % para ambas concentraciones. En el día 8 de almacenamiento, más del 60% de los frutos de los controles negativos presentaron incidencia de *B. cinerea*; mientras que los controles positivos de las dos concentraciones presentaron 23 y 35 % de incidencia del hongo, en los frutos con el tratamiento de MeJA, se observó menor presencia del hongo en un (12 % y 7 % con 50 y 100  $\mu\text{M/L}$  de MeJA respectivamente) (Figura 21).

Estos resultados indican que la aplicación de MeJA en frutos de zarzamora en la etapa poscosecha es efectivo para reducir 5 veces la presencia de *B. cinérea* en zarzamoras almacenadas durante 8 días a 10°C. La concentración de 100  $\mu\text{M/L}$  de MeJA tienen mayor reducción del hongo en 8 días de almacenamiento.



**Figura 21. a)** Evolución de incidencia de *Botrytis cinerea* en frutos de zarzamora cv ‘Sultana’, durante 8 días de almacenamiento a 10 °C. Control negativo (fruta de campo) A. Control positivo (fruta desinfectada, MeJA, almacenada en aire) B. Tratamiento de MeJA (desinfección, inoculación, 50 y 100 µmol/L MeJA) C. **b)** Porcentaje de incidencia de *Botrytis cinerea* en frutos de zarzamora, durante 8 días de almacenamiento a 10 °C, con la aplicación de 50 y 100 µmol/L MeJA. Las barras verticales representan los errores estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

En estudios realizados en fresa, Zhang *et al.*, (2006) se observaron resultados similares. Los frutos tratados con 1 µmol/L MeJA y almacenados a 5 °C, presentaron una notable reducción de las pudriciones fúngicas visuales a partir del día 4 de almacenamiento, el índice de descomposición aumentó gradualmente llegando a

12.7 % de pudriciones, comparado con el control donde obtuvieron presencia de pudriciones a partir del día 2 de almacenamiento, alcanzando un 45.3 % de pudriciones a los 10 días de almacenamiento. Los autores le asignaron un papel importante a las fitoalexinas y a la actividad de quitinasas inducidas por la aplicación del MeJA como los factores importantes para el control del desarrollo del hongo; El-Mogy *et al.*, en el 2019, también evaluaron dos concentraciones de MeJA (0.25 y 0.50 mmol/L) en frutos de fresa almacenados a 4 °C por 12 días y humedad relativa de 90%, observando que en ambas concentraciones, se redujo la incidencia de pudriciones a un 20 % en el día 8 respecto al control que alcanzó el 50 % de incidencia de pudriciones. Por otro lado Wang *et al.*, (2020) trabajaron con frutos de arándano inoculados con *Botrytis cinerea*, tratados con 50  $\mu\text{mol/L}^{-1}$  de MeJA y almacenados a 22 °C , muestran un 30 % de incidencia de pudriciones a los 5 días de almacenamiento siendo menor respecto al control. La reducción de incidencia de pudriciones puede estar asociada a la inducción de mecanismos naturales de defensa de la fruta, provocando un aumento en la actividad de fenilalanina amonioliasa (PAL), PAL es una enzima clave en el primer paso de la ruta de los fenilpropanoides, que está directamente involucrada en la síntesis de fitoalexinas y compuestos fenólicos (Zhang *et al.*, 2006). Se ha demostrado que el MeJA induce la síntesis y expresión de proteínas de choque térmico y las proteínas relacionadas con la patogenia, que conducen a una mayor resistencia a los patógenos (Ding *et al.*, 2002)

### 6.2.2 Cambios en la calidad de los frutos

Para comprobar que el tratamiento de metil jasmonato, además de reducir la incidencia de *B. cinerea*, mantiene la calidad en los frutos de zarzamora, se evaluó pérdida de peso, marchitez, reversión de color (se realizó una inspección visual de los frutos inoculados con el hongo y se comparó con un control positivo y un control negativo), color y firmeza, contenido de antocianinas y fenoles totales.

### 6.2.2.1 Cambios en la pérdida de peso

El análisis de varianza de los datos de pérdida de peso señaló que solamente el factor tratamiento y los días de almacenamiento tuvieron efectos significativos en la pérdida de peso de los frutos (Cuadro 11).

**Cuadro 11.** Análisis de varianza de los efectos de la aplicación de MeJA, el periodo de almacenamiento y sus respectivas interacciones en la pérdida de peso de frutos de zarzamora cv ‘Sultana’ almacenada a 10 °C.

Fuente de var	N ° param	Grados libertad	Suma de cuadrados	Valor F	Probabilidad (p>0.05)
Tratamiento	2	2	4.37926	3.9348	0.0285
Conc MeJA	1	1	0.10667	0.1917	0.6641
Tratamiento*Conc MeJA	2	2	1.13778	1.0223	0.3700
Dia	2	2	966.62926	868.5188	<.0001
Tratamiento*Dia	4	4	2.92519	1.3141	0.2833
Conc MeJA*Dia	2	2	0.98778	0.8875	0.4205
Tratamiento*Conc MeJA*Dia	4	4	1.14444	0.5141	0.7257

Los frutos tratados con MeJA y el Control + mostraron la menor pérdida de peso (4.6 y 4.8% respectivamente) en comparación del Control- que mostró la mayor pérdida de peso (5.3 %). De forma lógica, la pérdida de peso se incrementó a medida que transcurrieron los días de almacenamiento; desde 0 % en el día 0, 4.3 % en el día 4 y 10. 3 % en el día 8.

La comparación de medias de la interacción tratamiento\*días de almacenamiento no identificó efectos en la pérdida de peso de las distintas concentraciones de MeJA respecto de los frutos control + o - y solo hubo un efecto de los días de almacenamiento (Cuadro 12).

**Cuadro 12.** Comparación general de medias de la interacción tratamiento\*día de almacenamiento del efecto de la aplicación de MeJA en frutos de zarzamora cv 'Sultana' almacenada durante 0, 4 y 8 días a 10 °C.

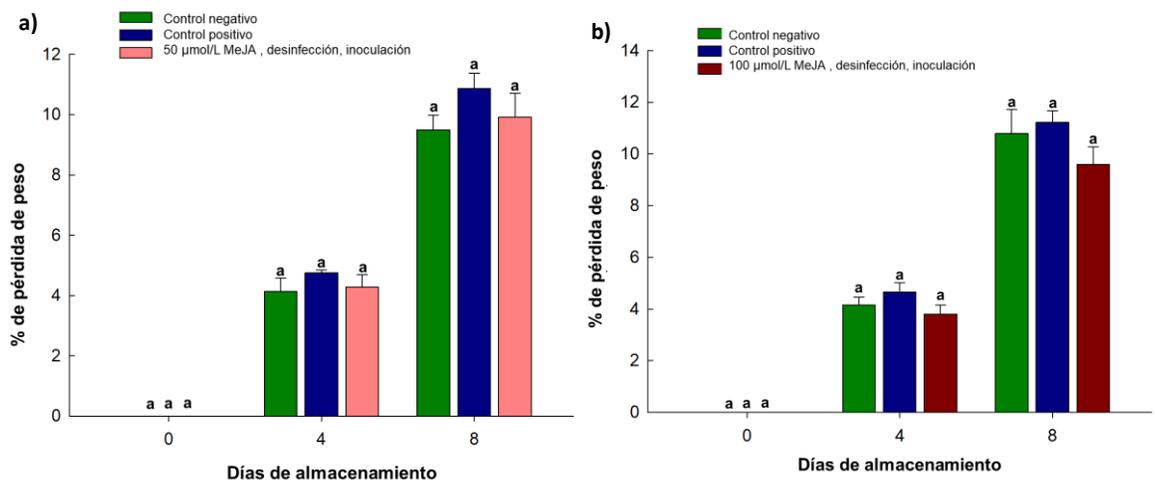
Tratamiento*día	% pérdida de peso
Control+,8	11.1a
Control-,8	10.1a
MeJA 50,8	9.9a
MeJA 100,8	9.6a
Control+,4	4.7b
MeJA 50,4	4.3b
Control-,4	4.1b
MeJA 100,4	3.8b
MeJA 100,0	0.0d
MeJA 50,0	0.0d
Control+,0	0.0d
Control-,0	-0.0d

La comparación de medias en forma separada por concentración de MeJA y por día de almacenamiento se muestra en la Figura 22.

Los resultados muestran que el tratamiento de MeJA no alteró la pérdida de peso de los frutos.

Los resultados son similares a los reportados en fresa por Geransayeh *et al.*, (2015), quienes evaluaron la aplicación por aspersión de MeJA en etanol a diferentes concentraciones (10, 30 y 60  $\mu\text{L L}^{-1}$  en etanol) y almacenados por 12 días a 4 °C, observando que los frutos no presentaron diferencia de pérdida de peso entre los tratamientos de MeJA, sin embargo los frutos tratados con MeJA perdieron menos peso comparados con el grupo control. Mientras que estos datos contrastan con lo indicada por El-Mogy *et al.*, (2019), en su estudio con frutos de fresa tratados 0.25 mmol/L de MeJA y almacenados a 4 °C por 12 días, indicaron que los frutos tratados con MeJA mostraron menor pérdida de peso 6 %, comparado con el control. En

frutos de mango, Gonzalez-Aguilar *et al.*, (2000) tratados con  $10^{-4}$  M de MeJA almacenados 21 días a 7 ° C también observaron que la pérdida de peso fue comparable con el control (1 %) . La disminución de pérdida de peso probablemente se deba al efecto del tratamiento de MeJA en la reducción de la tasa de respiración y la producción de etileno, también se puede asociar con el mantenimiento de la firmeza y la calidad de la fruta (Babalar, M *et al.*, 2007) así como en el desarrollo y maduración de frutas como la fresa; (Perez *et al.*, 1997).



**Figura 22.** Cambios en la pérdida de peso de frutos de zarzamora almacenados, 8 días a 10 °C. **a)** tratamiento con 50 µmol/L MeJA. **b)** tratamiento con 100 µmol/L MeJA. Control negativo (fruta de campo), Control positivo (fruta desinfectada) y tratada con MeJA, almacenada en aire) Las barras verticales representan los errores estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

#### 6.2.2.2 Cambios en la marchitez de los frutos.

La evaluación de este parámetro fue visual, se observó cada fruto de zarzamora y se contabilizó el número de drupeolas con aspecto marchito; cuando se contabilizaban más de cinco drupeolas marchitas, se contabilizaba como fruto marchito. El número de frutos marchitos se comparó con el número total de frutos y se expresó en porcentaje.

El análisis de varianza de los datos mostró efectos significativos de los días de almacenamiento y de la interacción tratamiento\*día (Cuadro 13).

**Cuadro 13.** Análisis de varianza general de los efectos de los tratamientos y de la aplicación de 50 y 100  $\mu$ M de MeJA en la marchitez de los frutos de zarzamora cv 'Sultana' almacenados por 0, 4 y 8 días a 10 °C.

F. de variación	parámetros	G libertad	$\Sigma$ cuadrados	Valor F	Probabilidad $p < 0.05$
Tratamiento	3	3	460.191	1.2653	0.2986
Día	2	2	41248.514	170.1258	<.0001
Tratamiento*Día	6	6	4439.380	6.1033	0.0001

De manera lógica, la marchitez se incrementó a medida que transcurrió el periodo de almacenamiento (1.4 % el día 0 hasta 69.8 % el día 8).

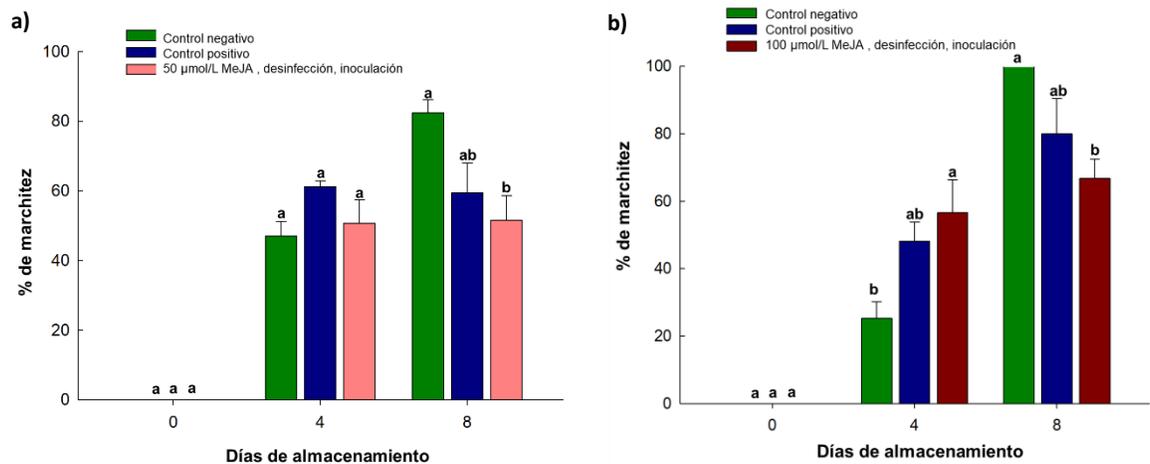
La comparación de medias de la interacción tratamiento\*día de todos los valores de marchitez dentro del periodo de almacenamiento se muestra en el Cuadro 14.

**Cuadro 14.** Comparación de medias de los valores de marchitez de frutos de zarzamora cv ‘Sultana’ procedentes de campo (control-), desinfectados (control+) y tratados con 50 y 100  $\mu$ M de MeJA y almacenados hasta por 8 días a 10 °C.

<b>Tratamiento*día</b>	<b>Marchitez</b>
Control-,8	91.2a
Control+,8	69.7ab
MeJA 100,8	66.7ab
MeJA 100,4	56.5bc
Control+,4	54.7bc
MeJA 50,8	51.5bc
MeJA 50,4	50.7bc
Control-,4	36.2c
MeJA 50,0	0.0d
MeJA 100,0	0.0d
Control-,0	0.0d
Control+,0	0.0d

Los datos anteriores muestran que el factor de marchitez fue influido principalmente por el tiempo de conservación y no se observaron efectos concretos de la aplicación de las diferentes concentraciones de MeJA

La Figura 23 muestra de manera gráfica la variación de la marchitez de los tratamientos estudiados.



**Figura 23.** Porcentaje de marchitez en frutos de zarzamora, almacenados 8 días a 10 °C. Control negativo (fruta de campo), Control positivo (fruta desinfectada, MeJA, almacenada en aire) **a)** tratamiento de 50 µmol/L MeJA. **b)** tratamiento de 100 µmol/L MeJA. Las barras verticales representan los errores estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

### 6.2.2.3 Cambios en el color

El análisis de varianza de todos los valores de color tanto de los frutos del control negativo, control positivo, así como de los frutos desinfectados y tratados con 50 y 100 µM de MeJA señaló un efecto altamente significativo de los días de almacenamiento y de la interacción triple tratamiento\*concentración de MeJA\*días de almacenamiento (Cuadro 15).

La comparación de medias durante los días de almacenamiento señaló que los frutos almacenados durante 4 días fueron más brillantes ( $L^* = 27.2$ ) respecto de los frutos almacenados durante 0 y 8 días (18.7 y 21.1 respectivamente). Que los valores de  $a^*$ ,  $b^*$  y  $C^*$  disminuyeron durante el almacenamiento y que el ángulo de matiz o hue mostró valores más altos y estadísticamente iguales los días 0 y 4 (319) que los mostrados el día 8 (308.6). Estos datos señalan, de forma general, que los

frutos fueron más brillantes y con tonos más morados el día 4 con valores de a\*, b\* y C\* intermedios.

La comparación de medias de la interacción triple tratamiento\*concentración MeJA\*día de todos los valores de color se muestra en el Cuadro 15.

**Cuadro 15.** Comparación de medias de los valores de color de la interacción tratamiento\*Conc de MeJA\*día de almacenamiento en frutos de zarzamora tratados en poscosecha con 50 y 100  $\mu\text{M}$  de MeJA almacenados por 0, 4 y 8 días a 10 °C. Comparación con frutos de campo (Cont -) y con frutos desinfectados (Cont +)

Trat*conc*día	L	a*	b*	hue	C*
Cont -,50,0	24.0cde	2.0bcde	2.5ab	304.7cde	3.2abcd
Cont -,50,4	25.1bcd	1.2cdefg	2.3abc	298.1e	3.0abcd
Cont -,50,8	21.6def	0.7defgh	1.2bcdef	305.1bcde	2.3bcd
Cont -,100,0	14.9h	2.7abc	1.8abcde	323.9a	3.3abcd
Cont -,100,4	27.5abc	0.6efghi	0.6efg	314.2abcde	1.5d
Cont -,100,8	20.8efg	-0.8efghi	1.0cdef	319.4abcd	2.1cd
Cont +,50,0	18.4fgh	2.7abc	2.1abc	323.9a	2.8abc
Cont +,50,4	25.9abc	1.6cdef	2.0abcd	308.3abcde	2.9abcd
Cont +,50,8	21.3ef	0.9defg	0.4fg	325.9a	1.9cd
Cont +,100,0	18.5fgh	3.2ab	2.1abc	324.5a	4.1ab
Cont +,100,4	29.1a	1.1defg	1.5abcdef	305.7bcde	4.2ab
Cont +,100,8	20.6efg	-0.8hi	0.6g	325.9a	1.6d
MeJA,50,0	19.3fg	3.7a	2.7a	321.4abc	4.7a
MeJA,50,4	26.9abc	1.4cdefg	2.1abc	303.5de	3.0abcd
MeJA,50,8	20.9efg	-0.9i	-0.6g	317.0abcd	2.1cd
MeJA,100,0	17.1gh	2.2abcd	1.4abcdef	320.4abcd	2.9abcd
MeJA,100,4	28.7ab	0.3fghi	0.7defg	321.1abc	2.8abcd
MeJA,100,8	21.1ef	0.01ghi	0.4fg	322.1ab	1.4d

Aunque los frutos tratados con 50 y 100  $\mu\text{M}$  de MeJA y almacenados por 4 días a 10°C mostraron valores altos de luminosidad, hue y C\* así como valores intermedios de a\* y b\* ; la comparación con los controles negativos o positivos no permite establecer un claro efecto del tratamiento del MeJA en los valores de color. Estos datos permiten señalar que el tratamiento con el MeJA no afectó de manera drástica el color de los frutos.

Es posible que el color oscuro de la zarzamora no permitió ver de manera clara los efectos del tratamiento de MeJA; en el trabajo realizado por Ayala-Zavala *et al.*,(2005), en frutos de fresa tratados con 22.4 mg/L de MeJA (22,4 mg l<sup>-1</sup>) y almacenados por 11 días a 7.5 °C, observaron que los frutos del tratamiento de MeJA presentaron valores más altos de Hue y croma respecto de los frutos control.

#### 6.2.2.4 Efecto sobre la reversión de color

El análisis de varianza de todos los datos de reversión de color de todos los tratamientos señaló efectos altamente significativos del tratamiento, el día de almacenamiento y la interacción tratamiento\*día (Cuadro 16).

La reversión de color fue mayor en los frutos del control+ (53.5 %) mientras que los frutos tratados con 50 µM de MeJA, mostraron el menor porcentaje de reversión de color (43.8%). Así mismo, la reversión de color se incrementó conforme transcurrió el periodo de almacenamiento (desde 0 hasta 87 % en el día 8); que la aplicación de MeJA mostró porcentajes de reversión de color más bajos (46%), pero estadísticamente similares al Control – y que el Control + mostró los porcentajes más altos de reversión de color (53%). Estos datos señalan que esta variedad incrementa su reversión de color a medida que transcurre el almacenamiento y que la aplicación de MeJA redujo temporalmente esa tendencia pero no la eliminó

**Cuadro 16.** Análisis de varianza general de los efectos de la aplicación de 50 y 100 µM de MeJA en la reversión de color de frutos de zarzamora cv ‘Sultana’ almacenada por 0, 4 y 8 días a 10 °C.

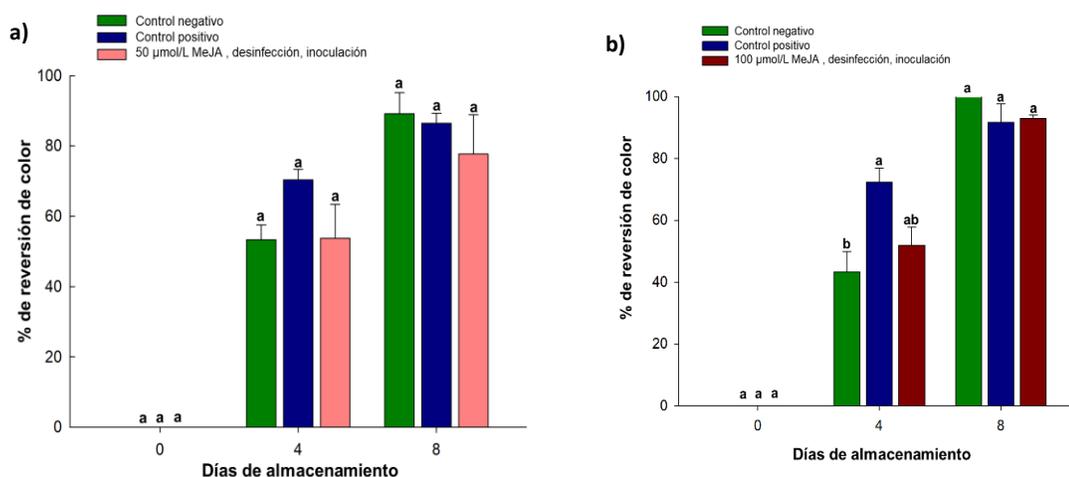
Fuente de variación	Número de parámetros	Grados de libertad	Σcuadrados	Valor F	Probabilidad (p<.05)
Tratamiento	3	3	638.572	3.0534	0.0387
Día	2	2	64297.621	461.1747	<.0001
Tratamiento*Día	6	6	1764.197	4.2179	0.0021

La comparación general de medias de la interacción tratamiento\*día de almacenamiento se muestra en el Cuadro 17.

**Cuadro 17.** Comparación de medias de la reversión de color de frutos de zarzamora cv ‘Sultana’ tratadas con 50 y 100  $\mu\text{M}$  de MeJA almacenada durante 0, 4 y 8 días a 10 °C.

Trat*día	% Reversión de color
Control-,8	94.6a
MeJA 100,8	93.0a
Control+,8	89.0a
MeJA 50,8	77.7ab
Control+,4	71.3bc
MeJA 50,4	53.8cd0
MeJA 100,4	52.0cd
Control-,4	48.3d
Control-,0	-0.0e
Control+,0	-0.0e
MeJA 50,0	-0.0e
MeJA 100,0	-0.00000

Los datos anteriores muestran claramente que la reversión de color se incrementó en todos los tratamientos a medida que transcurrió el almacenamiento y que la aplicación de diferentes concentraciones de MeJA no tuvo efecto sobre este factor de calidad. De forma gráfica la Figura 24 muestra este comportamiento.



**Figura 24.** Cambios en el porcentaje de reversión de color en frutos de zarzamora cv ‘Sultana’, durante 8 días de almacenamiento a 10 °C. Control negativo (fruta de campo), Control positivo (fruta desinfectada, almacenada en aire) **a)** tratamiento de 50 µmol/L MeJA. **b)** tratamiento de 100 µmol/L MeJA. Las barras verticales representan los errores estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

Aunque no se observó un efecto completamente inhibitorio de la reversión de color por las aplicaciones de MeJA. Es posible que el almacenamiento a temperatura óptima (1 °C) mejore este resultado.

#### 6.2.2.5 Cambios en la acidez titulable y Contenido de Sólidos Solubles totales

El análisis de varianza de los datos de SST, acidez titulable y la relación SST/Acidez señalo efectos altamente significativos del tratamiento, día de almacenamiento y de las interacciones tratamiento\*Concentración de MeJA y tratamiento\*día (Cuadro 18). El Control+ mostró contenidos de SST mayores (12.7) y mayor relación SST/acidez que los frutos tratados con MeJA y Control- quienes mostraron contenidos de SST estadísticamente similares (12.1 y 11.7 respectivamente) e iguales relaciones SST/Acidez; en cuanto a los días de almacenamiento, el

contenido de SST fue mayor y estadísticamente igual los días 0 y 4 (13.1 y 12.8 respectivamente) y diferente al mostrado el día 8 que fue significativamente menor (10.6)

**Cuadro 18.** Análisis de varianza de los efectos de la aplicación de 50 y 100  $\mu$ M de MeJA en el contenido de sólidos solubles totales (SST), la acidez titulable y la relación SST/Acidez en frutos de zarzamora cv " almacenados por 0, 4 y 8 días a 10 °C

Fuente	SST		Acide Titulable		SST/Acidez	
	F	p	F	p	F	p
Tratamiento	10.2910	<.0001	8.1627	0.0004	14.8512	<.0001
Conc MeJA	15.2870	0.0001	3.0416	0.0833	0.7067	0.4019
Tratamie* Conc	5.6776	0.0042	9.7902	0.0001	16.3913	<.0001
Dia	69.8663	<.0001	161.6890	<.0001	36.4581	<.0001
Tratamiento*Dia	15.8899	<.0001	11.3906	<.0001	7.2719	<.0001
Conc*Dia	2.3748	0.0967	2.3906	0.0952	6.5917	0.0018
Tratamiento* Conc*Dia	0.2674	0.8986	2.2875	0.0628	3.2542	0.0137

De forma lógica, el comportamiento de la acidez titulable mostró valores inversos que los SST, los frutos tratados con MeJA y el control- tuvieron los valores más altos y estadísticamente similares (1.2) mientras que el control+ mostró valores más bajos (1.1). Respecto de los días de almacenamiento, la acidez disminuyó conforme transcurrió el almacenamiento (desde 1.4 hasta 1.0 en los días 0 y 8 respectivamente).

La comparación de medias de los diferentes tratamientos en los diferentes días de almacenamiento y para los diferentes factores analizados (SST, Acidez y SST/Acidez), se muestra en el cuadro 19.

**Cuadro 19.** Comparación de medias de los valores de SST, Acidez titulable y la relación SST/Acidez de frutos de zarzamora cv “ tratados con 50 y 100mM de MeJA y almacenados por 0,4 y 8 días a 10 °C.

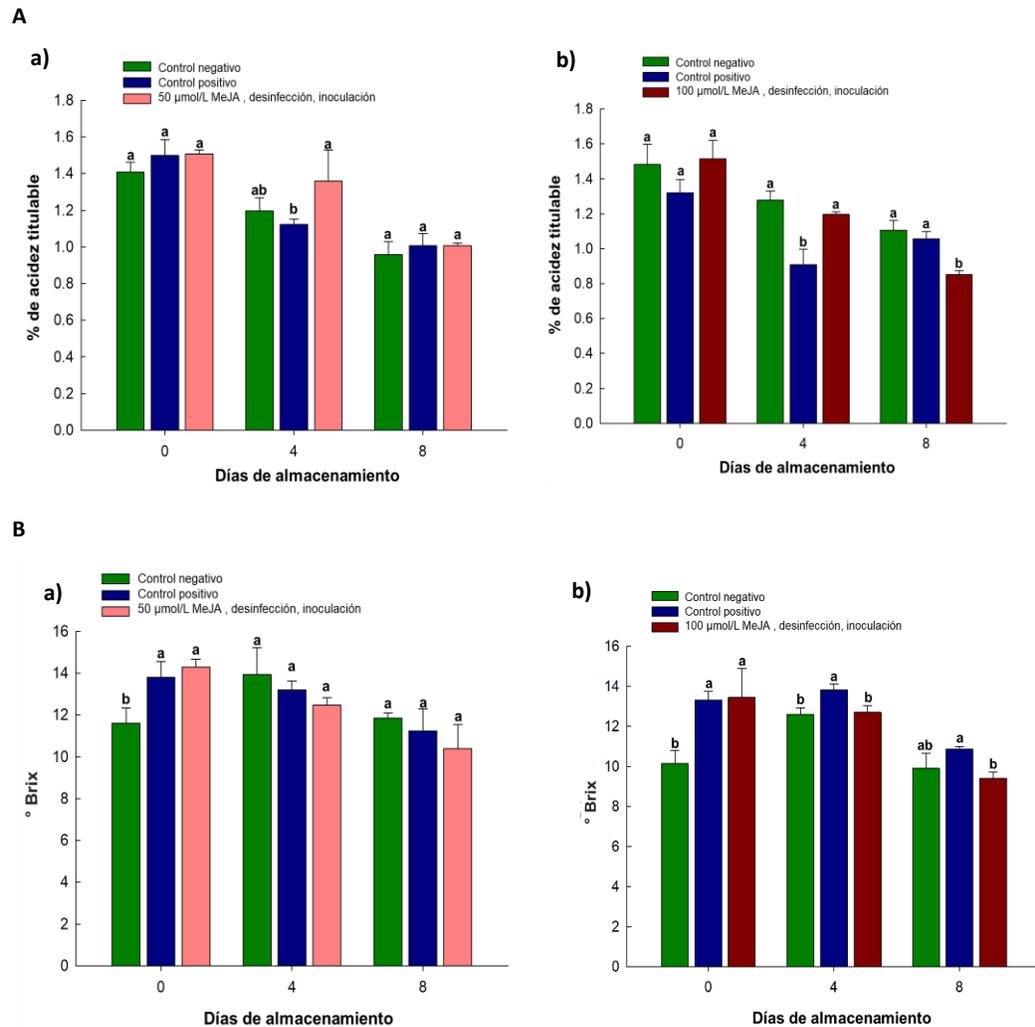
Trat*conc*día	SST	Acidez	SST/Acidez*
Cont -,50,0	11.6cdef	1.4ab	8.3fg
Cont -,50,4	13.9a	1.2cdef	11.9bc
Cont -,50,8	11.9bcdef	1.0gh	12.6b
Cont -,100,0	10.1fg	1.5ab	7.0g
Cont -,100,4	12.6abcde	1.3bcd	9.9bcdef
Cont -,100,8	9.9fg	1.1defg	9.0defg
Cont +,50,0	13.8ab	1.5ab	9.2cdefg
Cont +,50,4	13.2abcd	1.1defg	11.7bcd
Cont +,50,8	11.2defg	1.0efgh	11.4bcde
Cont +,100,0	13.3abc	1.3abc	10.2bcdefg
Cont +,100,4	13.8ab	0.9gh	15.6a
Cont +,100,8	10.9efg	1.1efgh	10.4bcdef
MeJA,50,0	14.3a	1.5ab	9.5cdefg
MeJA,50,4	13.8ab	1.4abc	9.5cdefg
MeJA,50,8	10.4fg	1.0efgh	10.5bcdef
MeJA,100,0	13.4abc	1.5a	8.8efg
MeJA,100,4	12.7abcde	1.2cde	10.6bcdef
MeJA,100,8	9.4g	0.9h	11.1bcdef

De manera general, se observa que no hubo un efecto estadístico de la aplicación de las diferentes concentraciones de MeJA en los contenidos de sólidos solubles totales, la acidez titulable y la relación SST/Acidez. No obstante, se observó una disminución de estos factores a medida que transcurrió el periodo de almacenamiento tanto en los frutos tratados como en los frutos de los controles negativo y positivo. Estos resultados sugieren que la aplicación del MeJA no alteró estos factores de calidad importantes en la calidad sensorial de los frutos.

Las Figuras 25A y 25B muestran de manera gráfica los comportamientos anteriormente descritos.

Los resultados obtenidos son similares con lo reportado por Geransayeh *et al.*, (2015), donde aplicaron concentraciones de 60  $\mu\text{ML}^{-1}$  de MeJA en frutos de fresa almacenados durante 12 días a 4° C, la AT disminuyó gradualmente durante el almacenamiento y obtuvieron un aumento de SST. Ayala-Zavala *et al.* (2005)

mostraron que los frutos de fresa tratados con  $22.4 \text{ mg l}^{-1}$  de MeJA durante 10 días de almacenamiento a  $7.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , mantuvieron el nivel de SST ( $7 \text{ }^{\circ}\text{Bx}$ ) como las muestras iniciales en el inicio del experimento (1.1). El-Mogy *et al.*, (2019) reportaron una disminución de SST a los 4 días de almacenamiento a  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  en frutos de fresa tratados con 0.25 y 0.50 mM MeJA (8.63 y 10.43  $^{\circ}\text{Brix}$  respectivamente) y una disminución de la AT desde el día 0 hasta el día 12 de almacenamiento (0.89 %). La disminución de los sólidos solubles totales podría explicarse por un alto metabolismo de la fruta y procesos de senescencia durante el almacenamiento (Ayala-Zavala *et al.*, 2005).



**Figura 25.** Cambios en la acidez titulable (A) y en el contenido de sólidos solubles totales (B) de frutos de zarzamora cv "almacenados durante 8 días a 10 °C. Control negativo (fruta de campo), Control positivo (fruta desinfectada, almacenada en aire) a) tratamiento con 50 µM/L de MeJA. b) tratamiento con 100 µMI/L de MeJA. Las barras verticales representan los errores estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

### 6.2.2.6 Cambios en la firmeza de los frutos

El análisis de varianza general de los datos de firmeza, mostró efectos significativos de los tratamientos aplicados, (frutos de campo, frutos desinfectados e inoculados y frutos tratados con MeJA); el día de almacenamiento (0, 4 y 8 días) y la interacción tratamiento\*día de almacenamiento. No fueron significativos la concentración de MeJA utilizada (50 y 100), ni las interacciones tratamiento\*concentración, la interacción Concentración MeJA\*día y la interacción triple tratamiento\*concentración MeJA\*día (Cuadro 20).

**Cuadro 20.** Pruebas de significancia estadística de los efectos de los diferentes factores y sus interacciones en la firmeza de los frutos de zarzamora cv 'Sultana'.

Tratamiento	N° param	Grados libertad	ΣCuadrados	Valor F	probabilidad
Tratamiento.	2	2	167.64451	9.4102	0.0001
Conc MeJA	1	1	21.15680	2.3751	0.1245
Trata.*Conc MeJA	2	2	14.44321	0.8107	0.4457
Día	2	2	353.81621	19.8603	<.0001
Trata.*Dia	4	4	204.22303	5.7317	0.0002
Conc MeJA*Día	2	2	33.12016	1.8591	0.1579
Trata.*Conc MeJA*Día	4	4	47.47788	1.3325	0.2583

Los tratamientos de control positivo desinfectados y los desinfectados, inoculados y tratados con MeJA mostraron los valores de firmeza más altos (9.3 a 9.4N) mientras que los frutos del control negativo registraron los valores más bajos (7.7 N); así mismo la firmeza disminuyó conforme transcurrió el almacenamiento (10.7, 8.8 y 7.4 N para los días 0, 4 y 8 respectivamente).

El Cuadro 21, muestra la comparación de medias de la interacción día\*tratamiento.

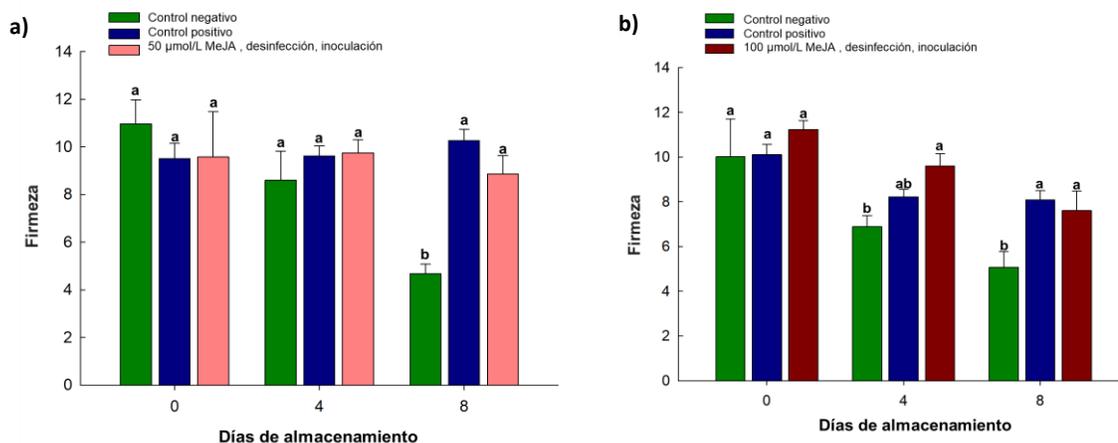
**Cuadro 21.** Comparación de medias (Tukey  $p < 0.05$ ) de la firmeza en frutos de zarzamora del control -, control +y desinfectados e inoculados y tratados con 50 y 100  $\mu\text{M}$  de MeJA.

<b>Tratamiento*día</b>	<b>Firmeza N</b>
Control -, 0	10.5a
Desf Ino MeJA, 0	10.4a
Control +, 0	9.8ab
Desf Ino MeJA, 4	9.7ab
Control +, 8	9.2ab
Control +, 4	8.9ab
Desf Ino MeJA,8	8.2ab
Control -, 4	7.7b
Control -, 8	4.9c

Los datos anteriores muestran que, al inicio de los experimentos, todas las frutas iniciaron con valores de firmeza estadísticamente similares. A medida que transcurrió el almacenamiento a 10 °C, los frutos del Control negativo perdieron firmeza drásticamente registrando los valores más bajos después de 8 días de almacenamiento (4.9 N), mientras que los frutos del Control + e inoculados y tratados con MeJA mantuvieron sus valores de firmeza durante los 8 días de almacenamiento. Estos datos muestran que el tratamiento con 50 o 100 mM de MeJA retrasan la degradación de la pared celular manteniendo más íntegro el tejido.

Llama la atención que cuando se analizan por separado los datos de los experimentos a 50 y 100 mM de MeJA a lo largo del almacenamiento, se observó una disminución en la firmeza en los frutos controles (positivo y negativo) en el tratamiento de 100  $\mu\text{M/L}$  de MeJA. Por el contrario, en la concentración de 50  $\mu\text{M}$  de MeJA los frutos del control positivo y el tratamiento de MeJA mantuvieron su firmeza hasta el día 8 de almacenamiento (Figura 26). Cuando se analizan los datos de forma conjunta no se encuentran diferencias entre estos tratamientos. Estos comportamientos se muestran de forma gráfica en la Figura 26.

Estudios similares en berries se ha observado un comportamiento similar. En frutos de fresa tratadas con 0.25 y 0.5 mM de MeJA almacenadas a 4 °C a los 8 días de almacenamiento los frutos tratados reportan una disminución en la firmeza (3.90 N) siendo esta aun mayor al control (El-Mogy *et al.*, 2019).



**Figura 26.** Cambios en la firmeza de frutos de zarzamora cv 'Sultana', almacenados 8 días a 10 °C. **a)** tratamiento de 50 µM/L de MeJA. **b)** tratamiento de 100 µM/L de MeJA. Control negativo (fruta de campo), Control positivo (fruta desinfectada, almacenada en aire) Las barras verticales representan los errores estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

### 6.2.3 Cambios en el contenido de antocianinas monoméricas

El análisis de varianza general de los datos de contenido de antocianinas monoméricas mostró efectos significativos de los tratamientos aplicados, (frutos de campo, frutos desinfectados e inoculados y tratados con MeJA); el día de almacenamiento (0, 4 y 8 días) y la interacción tratamiento\*día de almacenamiento. No fueron significativos la concentración de MeJA utilizada (50 y 100), ni las interacciones tratamiento\*concentración, la interacción Concentración MeJA\*día y la interacción triple tratamiento\*concentración MeJA\*día (Cuadro 22).

**Cuadro 22.** Pruebas de significancia estadística de los efectos de los diferentes factores y sus interacciones en el contenido de antocianinas monoméricas de los frutos de zarzamora cv 'Sultana'.

Fuente de variación	N° param	Grados libertad	Sum Cuadrados	Valor F	probabilidad
Tratamiento	3	3	492.77111	9.5283	<.0001
Dia	2	2	885.54818	25.6847	<.0001
Tratamiento*Dia	6	6	93.38447	0.9028	0.4946

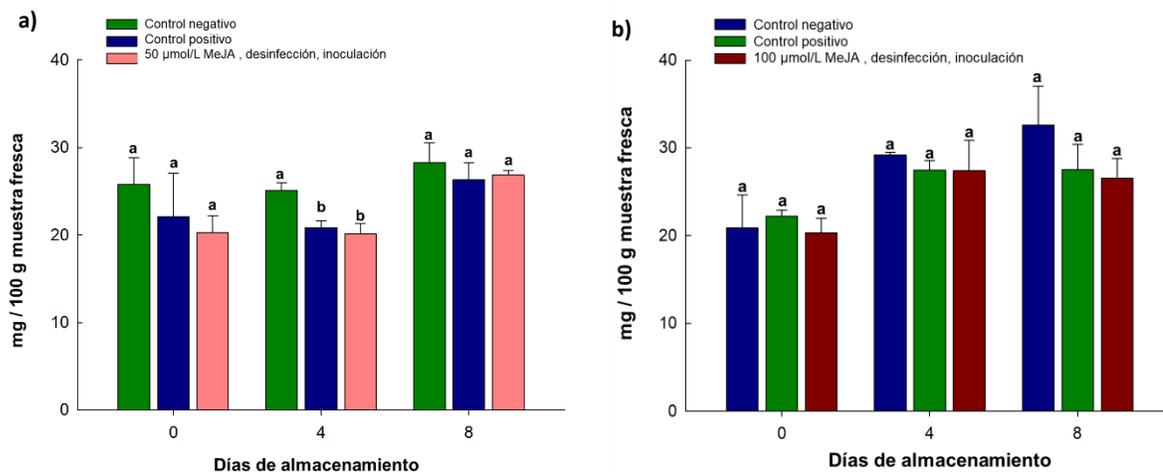
Estos resultados indicaron que los frutos procedentes del campo (Control-) mostraron mayor contenido de antocianinas monoméricas (26.4) y que los frutos del Control+ y tratados con MeJA tuvieron valores menores pero iguales estadísticamente (22.4 a 23.1). Después de 8 días de almacenamiento los contenidos de antocianinas fueron estadísticamente mayores (27.1) que los contenidos registrados en los días 0 y 4 (22.1 y 21.6 respectivamente).

La comparación de medias de los valores de estos pigmentos en los distintos tratamientos y días de almacenamiento se indica el Cuadro 23.

**Cuadro 23.** Comparación de medias de los contenidos de antocianinas monoméricas de frutos de zarzamora cv ‘Sultana’ de campo (Control -), desinfectados (Control +) y tratados con 50 o 100  $\mu$ M de MeJA/L.

<b>Tratamiento*día</b>	<b>Antocianinas monoméricas</b>
Control-,8	28.3a
MeJA 100,8	26.9ab
MeJA 50,8	26.9ab
Control+,8	26.3ab
Control-,0	25.8abc
Control-,4	25.1bcd
Control+,0	22.1cd
Control+,4	20.8d
MeJA 100,0	20.3cd
MeJA 50,0	20.3cd
MeJA 100,4	20.1d
MeJA 50,4	20.1d

En el día 8 de almacenamiento, todos los tratamientos mostraron los valores más altos y estadísticamente similares entre ellos (25.8 a 28.3). Mientras que en los días 0 y 4 todos los tratamientos mostraron los valores menores y estadísticamente similares (20.1 a 25.1). La excepción fue para el control- en el día 0 que mostró valores similares a los mostrados por todos los tratamientos en el día 8 (25.8). Este comportamiento se muestra de forma gráfica en la Figura 27.



**Figura 27.** Cambios en el contenido de Antocianinas monoméricas en frutos de zarzamora cv 'Sultana', almacenados 8 días a 10 °C. Control negativo (fruta de campo), Control positivo (fruta desinfectada, almacenada en aire) **a)** tratamiento de 50 µM/L MeJA. **b)** tratamiento de 50 µM/L MeJA. Las barras verticales representan los errores estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

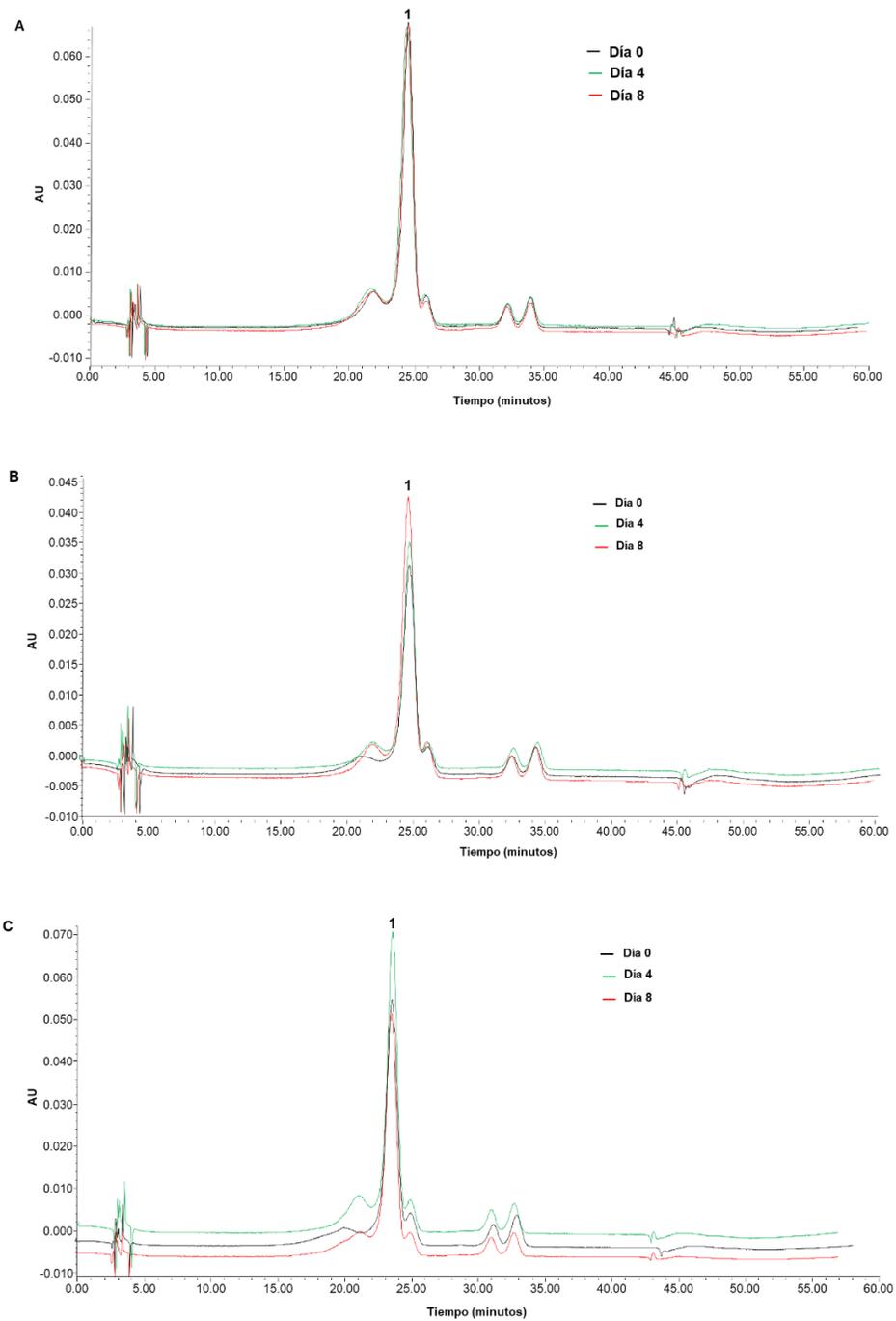
Wang *et al.*, (2008), al evaluar los efectos en frutos de zarzamora de las aplicaciones precosecha de 0.01 y 0.1 mM de MeJA en tres variedades de zarzamora (cv. Chester Thornless, Hull Thornless, and Triple Crown Thornless), observaron un mayor contenido de antocianinas totales con la aplicación de 0.1 mM de MeJA en las tres variedades (196.4, 221.6 y 216.9 mg/100g peso fresco respectivamente) respecto de los frutos de plantas control. De igual forma se observaron resultados similares en frutos de dos variedades de frambuesas con aplicaciones pre cosecha de MeJA (0.01 y 0.1 mM); los frutos tratados mostraron también un mayor contenido de antocianinas totales, respecto al control (Wang *et al.*, 2005). Aunque nuestros resultados no muestran un mayor contenido de estos pigmentos que los grupos control, la aplicación del MeJA no afectó negativamente la síntesis de estas antocianinas. Es muy posible que la aplicación poscosecha no tuvo el mismo impacto fisiológico que lo tuvo la aplicación precosecha en la planta.

Estos son los primeros resultados de estudios de aplicaciones poscosecha de MeJA en frutos de zarzamora aunque Blanch *et al.*, (2011) realizaron aplicaciones de

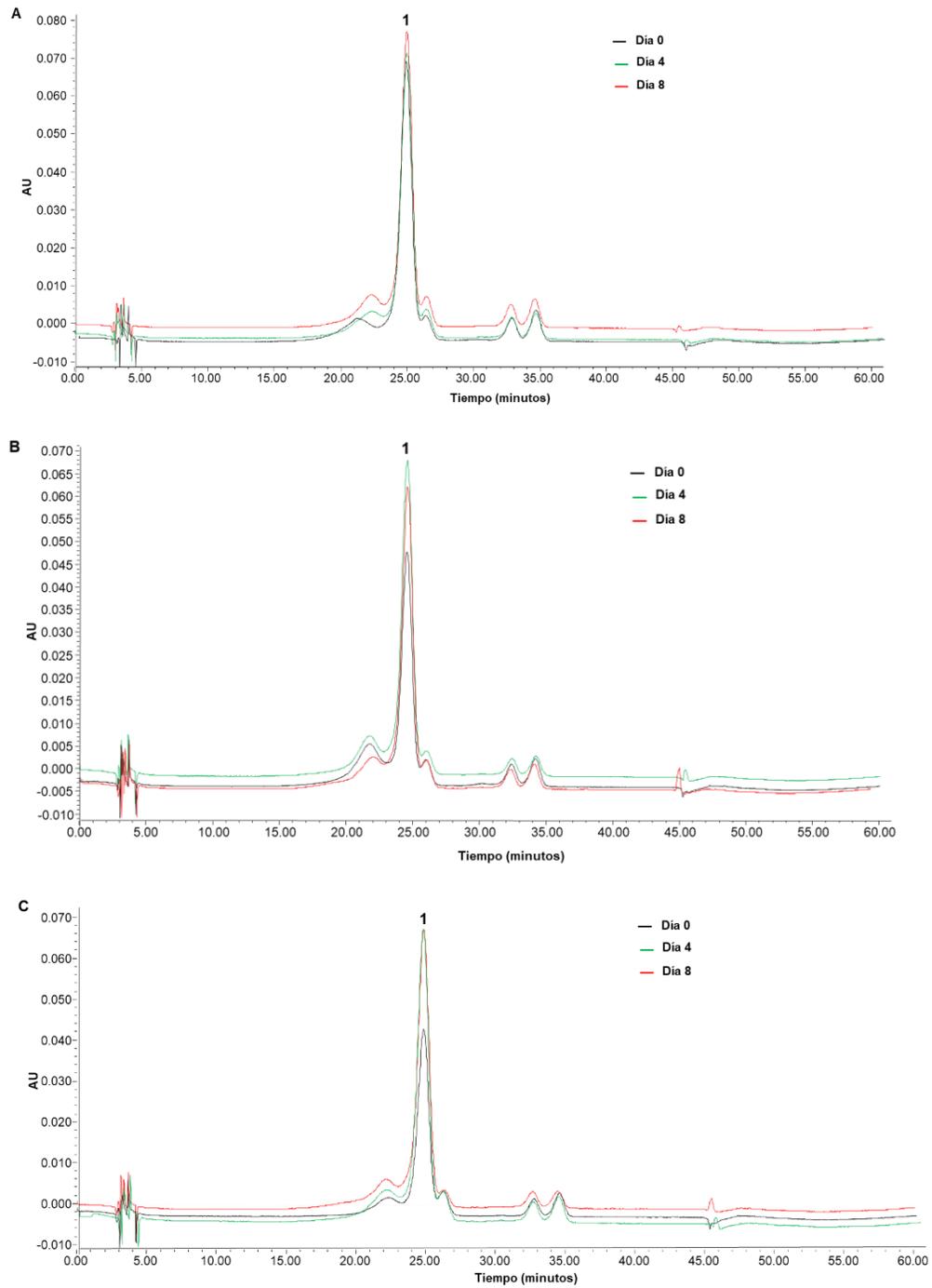
MeJA en etanol en poscosecha de frutos de zarzamoras de una cadena de supermercados en España para observar su efecto en la producción de compuestos volátiles (no encontraron algún efecto de la aplicación). No obstante, Wang *et al* (2021) reportaron un amplio conjunto de frutos con aplicaciones poscosecha de MeJA en las que se señalan efectos de este compuesto en la resistencia a enfermedades, incrementos en la actividad antioxidante y en la síntesis de diferentes compuestos asociados a las mejores características de calidad poscosecha de los mismos; siendo interesante señalar que en algunos frutos las mejores respuestas se encontraron con la aplicación de concentraciones de 200 a 500  $\mu\text{M}$  de MeJA. En este sentido, estudios realizados en frutos de fresa tratada con 170 mL/L de MeJA y almacenadas por 5, 7 y 11 días a 4 °C reportaron un incremento del contenido de cianidin 3 glucósido (6 veces mayor) que el grupo control; no obstante, en el día 11 el grupo tratado con MeJA registró una notable disminución a la tercera parte del contenido mostrado por el grupo control quien continuó incrementando su contenido de este pigmento (de la Peña Moreno *et al.*, 2010).

#### 6.2.4 Cambios en el perfil de antocianinas

La separación e identificación de las antocianinas de la zarzamora cv 'Sultana' por HPLC, en las muestras de los controles positivo y negativo y tratadas con 50 y 100  $\mu\text{M/L}$  MeJA durante todo el periodo de almacenamiento permitió reiterar que el pico 1 de todas las muestras pertenecía a la cinidina 3 glucósido, antocianina mayoritaria en los frutos de zarzamora. Esta antocianina representa el 70-90 % del total de antocianinas en frutos de zarzamora (Rutz, 2012). Respecto de los demás picos presentes en el cromatograma, no se observaron cambios en el perfil cromatograma durante los días de almacenamiento (Figura 28 y 29).



**Figura 28.** Perfiles cromatográficos representativos de antocianinas en frutos de zarzamora cv ‘Sultana’, almacenados por 0, 4 y 8 días a 10 °C . A. Control negativo (frutos de campo), B. Control positivo (frutos desinfectados + MeJA) C. tratamiento 50  $\mu\text{mol/L}$  MeJA.



**Figura 29.** Perfiles cromatográficos representativo de antocianinas en frutos de zarzamora cv ‘Sultana’, almacenados por 0, 4 y 8 días a 10 °C . A. Control negativo (frutos de campo), B. Control positivo (frutos desinfectados + MeJA) C. frutos desinfectados e inoculados con *B. cinérea* y tratados con 100  $\mu\text{mol/L}$  MeJA.

Tanto los tiempos de retención, el espectro de absorción y el área bajo la curva mostraron valores similares después de 8 días de almacenamiento (Cuadro 24 y 25).

**Cuadro 24.** Identificación de la antocianina del pico # 1 de frutos de zarzamora cv 'Sultana', almacenados 8 días a 10 °C. Control negativo (fruta de campo), control positivo (desinfección, MeJA), y tratados con 50 µM de MeJA.

Tratamiento	Pico	Tiempo de retención (min)	Nombre del compuesto	Área (UA)
D-0 Control negativo	1	24.46	cinidina 3 glucosido	3060615.00
D-0 Control positivo	1	24.52	cinidina 3 glucosido	3036055.33
D-0 50 µmol/L MeJA	1	24.44	cinidina 3 glucosido	2537580.67
D-4 Control negativo	1	24.71	cinidina 3 glucosido	3151008.00
D-4 Control positivo	1	24.80	cinidina 3 glucosido	2507845.33
D-4 50 µmol/L MeJA	1	24.73	cinidina 3 glucosido	2354484.33
D-8 Control negativo	1	24.55	cinidina 3 glucosido	3773027.67
D-8 Control positivo	1	24.70	cinidina 3 glucosido	3069839.33
D-8 50 µmol/L MeJA	1	24.80	cinidina 3 glucosido	3436817.00

**Cuadro 25.** Identificación de la antocianina del pico # 1 de frutos de zarzamora cv 'Sultana', almacenados 8 días a 10 °C. Control negativo (fruta de campo), control positivo (desinfección, MeJA), y tratados con 100 µM de MeJA.

Tratamiento	Pico	Tiempo de retención	Nombre del compuesto	Área (UA)
D-0 Control negativo	1	24.59	cinidina 3 glucosido	2504210.00
D-0 Control positivo	1	24.60	cinidina 3 glucosido	2476423.50
D-0 100 µmol/L MeJA	1	25.05	cinidina 3 glucosido	1985733.67
D-4 Control negativo	1	24.64	cinidina 3 glucosido	3626681.33
D-4 Control positivo	1	24.60	cinidina 3 glucosido	3261710.33
D-4 100 µmol/L MeJA	1	24.56	cinidina 3 glucosido	3070428.00
D-8 Control negativo	1	24.91	cinidina 3 glucosido	3869680.00
D-8 Control positivo	1	24.85	cinidina 3 glucosido	2895288.67
D-8 100 µmol/L MeJA	1	24.84	cinidina 3 glucosido	2845292.00

Los datos anteriores confirman que las aplicaciones de MeJA no alteraron los perfiles de antocianinas de los frutos así como tampoco alteraron sus contenidos como se mostró en la sección anterior.

El aumento en el contenido de antocianinas se puede relacionar con el etileno, el cual estimula las enzimas involucradas en la biosíntesis fenólica; principalmente la actividad de fenilalanina amonio-*liasa* ( Rigby *et al.*, 1972); Ismail, 1974). El metil jasmonato en combinación con sacarosa está relacionado en la regulación de las enzimas involucradas en la producción de antocianinas (Belhadj *et al.*, 2008).

Los datos anteriores señalan que durante el almacenamiento hubo síntesis de estos compuestos que pudo estar ligada al simple hecho de generar un mayor contenido de pigmentos. No obstante, también esta síntesis puede estar ligada a la formación de derivados de la 3-desoxiantocianinas como la apigenidina, la luteolinidina y estas con la formación de fluobafenos los cuales constituyen fitoalexinas relacionadas a el control de patógenos en otras plantas (Ibraheem *et al.*, 2015) La biosíntesis de flavonoides es altamente inducible por diferentes factores de estrés tanto de tipo biótico como abiótico (Hammerschmidt, 1999) y en este último caso pueden ser parte de las respuestas de defensa de las plantas hacia patógenos. No obstante, las fitoalexinas incluyen una amplia diversidad química que incluyen derivados de fenil propanoides como de flavonoides, isoflavonoides y sesquiterpenos y por ello mismo pueden proceder de rutas metabólicas diferentes (Hammerschmidt, 1999).

#### 6.2.5 Cambios en el contenido de fenoles totales

El análisis de varianza general de los contenidos de fenoles totales de los frutos de zarzamora cv 'Sultana' procedentes de los diferentes tratamientos y almacenados por 0, 4 y 8 días a 10 °C permitió observar efectos altamente significativos del tratamiento, día de almacenamiento y de la interacción concentración de MeJA\*día de almacenamiento (Cuadro 26).

**Cuadro 26.** Significancia estadística de los efectos de los tratamientos, las aplicaciones de MeJA y los días de almacenamiento en el contenido de fenoles totales de frutos de zarzamora cv ‘Sultana’ almacenados por 0, 4 y 8 días a 10 °C.

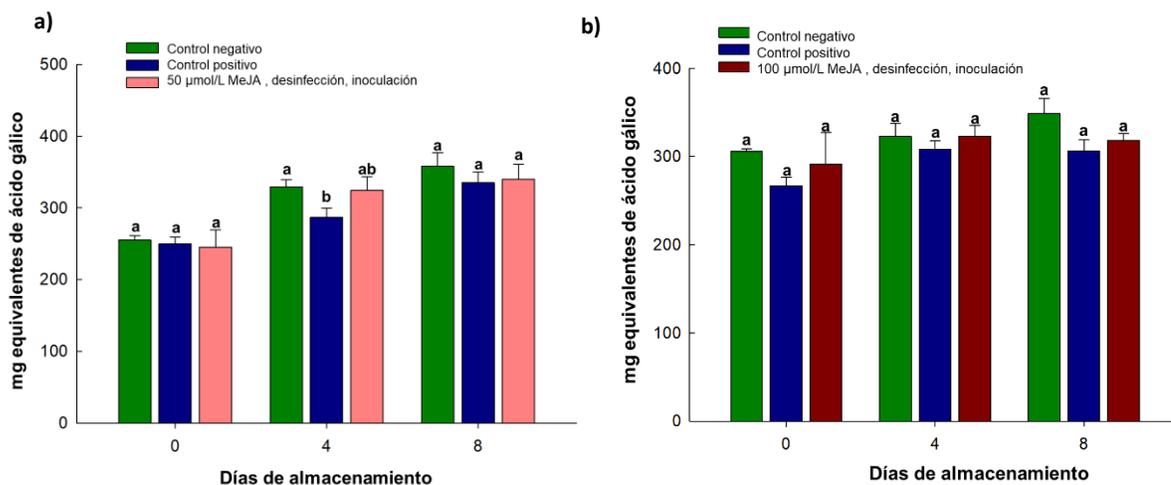
Factor	parámetros	GL	Σ cuadrado	Valor F	p>F
Tratamiento	3	3	21567.96	5.5164	0.0013
Día	2	2	107899.60	41.3958	<.0001
Tratamiento*Día	6	6	13886.75	1.7759	0.1077

La concentración de fenoles totales se incrementó conforme transcurrió el almacenamiento (de 268.9 a 333.1 en los días 0 y 8 respectivamente), así mismo los frutos del control- o procedentes del campo mostraron los mayores contenidos de fenoles (320.0) respecto de los frutos desinfectados o control+ y de los tratados con MeJA que fueron estadísticamente iguales (292.3 y 310.9, respectivamente). Aunque a medida que transcurrió el almacenamiento, incrementaron los contenidos de fenoles, las diferencias por efecto del MeJA no fueron significativas.

**Cuadro 27.** La comparación de medias de los contenidos de fenoles en todo el experimento permite visualizar este comportamiento.

Trat*conc*día	mg eq. de ácido gálico/100 g pf
Control-,8	353.4a
MeJA 50,8	339.8ab
Control-,4	326.0ab
MeJA 50,4	324.3abc
MeJA 100,4	322.8abc
Control+,8	320.8ab
MeJA 100,8	318.4abc
Control+,4	297.5bcd
MeJA 100,0	291.5bcde
Control-,0	280.4cde
Control+,0	258.5de
MeJA 50,0	245.1e

Los datos anteriores muestran que hubo una biosíntesis de compuestos fenólicos a medida que transcurrió el almacenamiento y que esta fue independiente de los tratamientos de MeJA aplicados como también se ilustra en la Figura 30

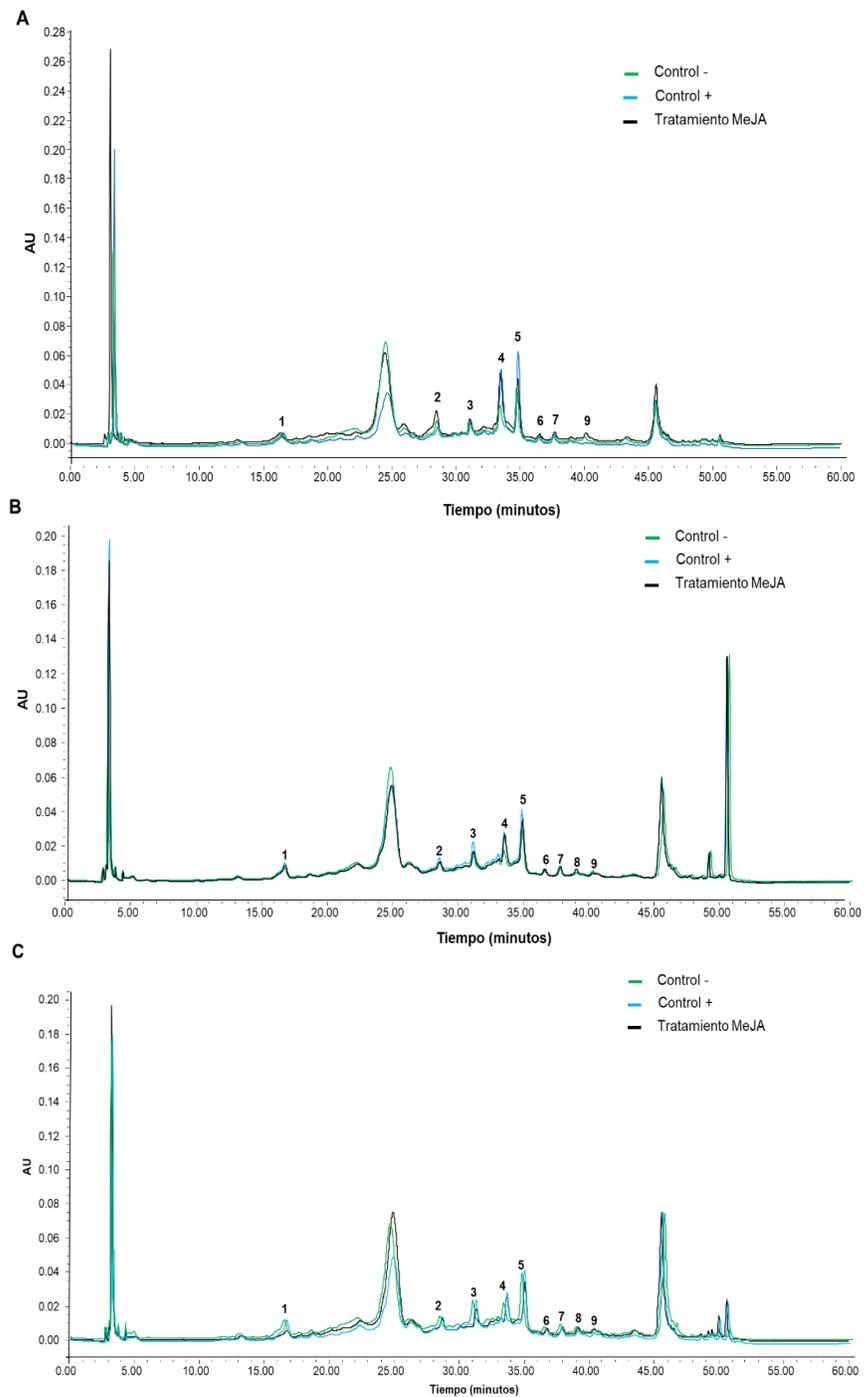


**Figura 30.** Cambios en el contenido de fenoles totales en frutos de zarzamora, almacenados 8 días a 10 °C. Control negativo (fruta de campo), Control positivo (fruta desinfectada, almacenada en aire) **a)** tratamiento de 50 µmol/L MeJA. **b)** tratamiento de 100 µmol/L MeJA. Las barras verticales representan los errores estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

Los resultados obtenidos fueron similares a lo reportado por de la Peña Moreno *et al.*, (2010), evaluaron frutos de fresa almacenados 11 días a 4 °C, con el tratamiento de MeJA, reportaron que hasta el día 7 de almacenamiento los frutos presentaron un aumento del 35 % en el contenido de fenoles totales, respecto al control, sin embargo, en el día 11 disminuyó por debajo de la concentración del control. Wang *et al.*, (2005), evaluaron frutos de fresa almacenados por 5 días a 7 °C, reportaron un aumento de compuestos fenólicos en frutas tratadas con MeJA respecto al control (frutas sin tratar) el cual obtuvo los valores más bajos de compuestos fenólicos (Ayala - Zavala *et al.*, 2005).

### 6.2.6 Cambios en el perfil de fenoles por HPLC

Al realizar la identificación individual de fenoles por el método de HPLC, en la concentración de 50  $\mu\text{mol/L}$  MeJA en el día 0, 4 y 8 de almacenamiento en los controles -, + y tratamiento de MeJA se identificaron los picos 2, 5 y 9 como ácido siríngico, ácido cumárico y rutina respectivamente, los picos 1, 3, 4, 6, 7 y 8 se reportaron como compuestos no identificados (figura 31, cuadro 28), durante todo el almacenamiento no se observó cambio en el perfil fenólico de estos compuestos.



**Figura 31.** Perfil de compuestos fenólicos en frutos de zaramora cv ‘Sultana’, almacenados 8 días a 10 °C. A) Día 0, B) Día 4 C) Día 8. Control – (Frutos de campo), Control + (frutos desinfectados + MeJA), Tratamiento MeJA (frutos desinfectados e inoculados con *B. cinérea* + 50  $\mu\text{mol/L}$ ).

**Cuadro 28.** Fenoles identificados en frutos de zarzamora cv ‘Sultana’ procedentes de campo (control negativo); desinfectados + MeJA y almacenados en aire (control positivo) y tratados con 50  $\mu$ M de Meja (frutos desinfectados e inoculados con *B. cinérea* almacenados a 10 °C por 8 días.

Nombre del tratamiento	Numero de pico	Tiempo de retención	Área	Nombre del compuesto
D-0 Control negativo	1	16.40	85773	No identificado
	2	28.49	177776	Ácido Siríngico
	3	31.08	143869	No identificado
	4	33.46	450446	No identificado
	5	34.65	529114	Ácido cumàrico
	6	36.46	24491	No identificado
	9	40.07	55293	Rutina
D-0 Control positivo	1	16.45	99890	No identificado
	2	28.54	131710	Ácido Siríngico
	3	31.11	143091	No identificado
	4	33.51	504734	No identificado
	5	34.84	678980	Ácido cumàrico
	6	36.48	58426	No identificado
	7	37.66	45178	No identificado
9	40.16	83409	Rutina	
D-0 50 $\mu$ mol/L MeJA	1	16.32	78274	No identificado
	2	28.44	210283	Ácido Siríngico
	3	31.04	157308	No identificado
	4	33.42	632367	No identificado
	5	34.78	699868	Ácido cumàrico
	6	36.45	33635	No identificado
	7	37.63	52765	No identificado
9	40.11	76945	Rutina	
D-4 Control negativo	1	16.32	90788	No identificado
	2	28.42	149435	Ácido Siríngico
	3	31.05	31	No identificado
	4	33.43	462734	No identificado
	5	34.79		Ácido cumarico
	6	36.50	27998	No identificado
	7	37.70	34833	No identificado
	8	38.97	21476	No identificado
	9	40.20	50997	Rutina
D-4 Control positivo	1	16.67	496765	No identificado
	2	28.41	159425	Ácido Siríngico

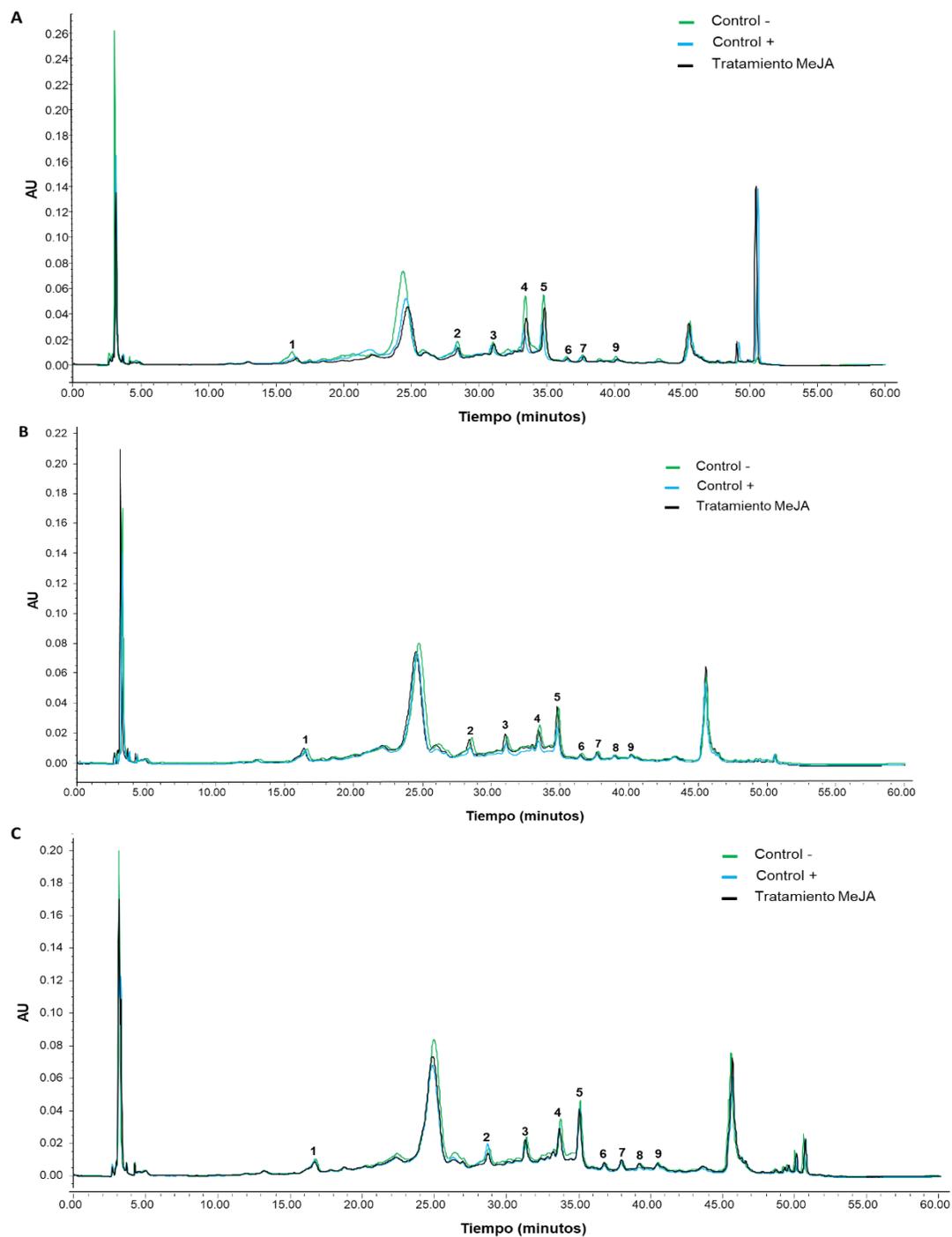
	3	31.11	206025	No identificado
	4	33.46	285428	No identificado
	5	34.83	514804	Ácido cumarico
	6	36.54	26844	No identificado
	7	37.74	37351	No identificado
	9	40.20	44151	Rutina
D-4 50 $\mu$ mol/L MeJA	1	16.57	103894	No identificado
	2	28.52	158659	Ácido Siríngico
	3	31.10	174239	No identificado
	4	33.47	285428	No identificado
	5	34.83	544328	Ácido cumarico
	6	36.54	28351	No identificado
	7	37.74	37351	No identificado
	9	40.23	29367	Rutina
D-8 Control negativo	1	16.44	80841	No identificado
	2	28.41	169025	Ácido Siríngico
	3	30.99	229619	No identificado
	4	33.37	215685	No identificado
	5	34.75	518123	Ácido cumarico
	6	36.46	27454	No identificado
	7	37.67	37140	No identificado
	8	38.94	31197	No identificado
	9	40.16	81667	Rutina
D-8 Control positivo	1	16.54	210139	No identificado
	2	28.54	180623	Ácido Siríngico
	3	31.15	242305	No identificado
	4	33.54	185414	No identificado
	5	34.91	388724	Ácido cumarico
	6	36.60	27340	No identificado
	7	37.79	38270	No identificado
	8	39.05	33263	No identificado
	9	40.29	70184	Rutina
D8 50 $\mu$ mol/L MeJA	1	16.64	86696	No identificado
	2	28.62	151545	Ácido Siríngico
	3	31.22	217576	No identificado
	4	33.59	277250	No identificado
	5	34.96	463140	Ácido cumarico
	6	36.68	31089	No identificado
	7	37.86	39639	No identificado
	8	39.11	36988	No identificado
	9	40.35	69971	Rutina

Los controles -, + y el tratamiento de 50  $\mu$ M MeJA, no presentaron diferencias en las áreas de los compuestos identificados durante 8 días de almacenamiento (cuadro 29).

**Cuadro 29.** Comparación de áreas de los compuestos identificados en el perfil fenólico de tratamiento 50  $\mu$ M MeJA.

Tratamiento	Día	Nombre del compuesto	Área
Control -	0	Ácido Siringico	177776 a
Control +	0	Ácido Siringico	131710 a
50 $\mu$ M MeJA	0	Ácido Siringico	210283 a
Control -	4	Ácido Siringico	149435 a
Control +	4	Ácido Siringico	159425 a
50 $\mu$ M MeJA	4	Ácido Siringico	158659 a
Control -	8	Ácido Siringico	169025 a
Control +	8	Ácido Siringico	180623 a
50 $\mu$ M MeJA	8	Ácido Siringico	151545 a
Control -	0	Ácido cumarico	529114 a
Control +	0	Ácido cumarico	678980 a
50 $\mu$ M MeJA	0	Ácido cumarico	699868 a
Control -	4	Ácido cumarico	462734 a
Control +	4	Ácido cumarico	514804 a
50 $\mu$ M MeJA	4	Ácido cumarico	544328 a
Control -	8	Ácido cumarico	518123 a
Control +	8	Ácido cumarico	388724 a
50 $\mu$ M MeJA	8	Ácido cumarico	463140 a
Control -	0	Rutina	55293 a
Control +	0	Rutina	83409 a
50 $\mu$ M MeJA	0	Rutina	76945 a
Control -	4	Rutina	50997 a
Control +	4	Rutina	44151 a
50 $\mu$ M MeJA	4	Rutina	29367 a
Control -	8	Rutina	81667 a
Control +	8	Rutina	70184 a
50 $\mu$ M MeJA	8	Rutina	69971 a

Los frutos tratados con 100  $\mu\text{M/L}$  de MeJA, en el día 0, 4 y 8 de almacenamiento no se observó cambio en el perfil fenólico, los cromatogramas son representativos para cada tratamiento. En los controles -, + y tratamiento de MeJA se identificaron los picos 2, 5 y 9 como ácido Siríntrico, Acido cumarico y rutina respectivamente, los picos 1, 3, 4, 6, 7 y 8 se reportaron como compuestos no identificados (figura 32, cuadro 30), durante todo el almacenamiento no se observó cambio en el perfil fenólico de estos compuestos.



**Figura 32.** Cromatogramas representativos del perfil de compuestos fenólicos en frutos de zarzamora cv ‘Sultana’, almacenados 8 días a 10 °C. A) Día 0, B) Día 4 C) Día 8. Control – (Frutos de campo), Control + (frutos desinfectados + MeJA), Tratamiento MeJA (100  $\mu$ mol/L).

**Cuadro 30.** Fenoles identificados en frutos de zarzamora cv ‘Sultana’ procedentes de campo (control negativo); desinfectados + MeJA y almacenados en aire (control positivo) y tratados con 100  $\mu$ M de MeJA (frutos desinfectados e inoculados con *B. cinérea*) almacenados a 10 °C por 8 días.

Nombre del tratamiento	Numero de pico	Tiempo de retención	Área	Nombre del compuesto
D-0 Control negativo	1	16.36	103914	No identificado
	2	28.38	121292	Ácido Siríngico
	3	30.97	120895	No identificado
	4	33.33	525229	No identificado
	5	34.70	773474	Ácido cumarico
	6	36.37	48819	No identificado
	7	37.56	63272	No identificado
	9	40.06	75211	Rutina
D-0 Control positivo	1	16.48	112503	No identificado
	2	28.32	139464	Ácido Siríngico
	3	30.93	127219	No identificado
	4	33.30	348489	No identificado
	5	34.67	508449	Ácido cumarico
	6	36.38	25776	No identificado
	7	37.57	36374	No identificado
	9	40.07	39589	Rutina
D-0 100 $\mu$ mol/L MeJA	1	16.85	91748	No identificado
	2	28.84	198468	Ácido Siríngico
	3	31.33	221893	No identificado
	4	33.66	875894	No identificado
	5	35.03	1030957	Ácido cumarico
	6	36.72	47158	No identificado
	7	37.92	70734	No identificado
	9	40.38	80031	Rutina
D-4 Control negativo	1	16.53	131340	No identificado
	2	28.50	176519	Ácido Siríngico
	3	31.06	166545	No identificado
	4	33.43	324648	No identificado
	5	34.80	2375499	Ácido cumarico
	6	36.50	28197	No identificado
	7	37.69	36780	No identificado
	9	40.18	68910	Rutina
D-4 Control positivo	1	16.47	114318	No identificado
	2	28.44	77192	Ácido Siríngico

	3	31.04	150777	No identificado
	4	33.43	139691	No identificado
	5	34.79	324558	Ácido cumarico
	6	36.49	21592	No identificado
	7	37.68	124412	No identificado
	9	40.16	44058	Rutina
D-4100 μmol/L MeJA	1	16.44	117350	No identificado
	2	28.44	77192	Ácido Siríngico
	3	31.03	170027	No identificado
	4	33.41	198769	No identificado
	5	34.79	400054	Ácido cumarico
	6	36.47	22062	No identificado
	7	37.66	29751	No identificado
	8	38.96	16675	No identificado
	9	40.15	59027	Rutina
D-8 Control negativo	1	16.74	133121	No identificado
	2	28.76	172830	Ácido Siríngico
	3	31.37	252582	No identificado
	4	33.59	342281	No identificado
	5	35.10	595493	Ácido cumarico
	6	36.79	29554	No identificado
	7	37.99	41701	No identificado
	9	40.47	100834	Rutina
	D-8 Control positivo	1	16.69	177648
2		28.68	189713	Ácido Siríngico
3		31.28	230008	No identificado
4		33.51	223667	No identificado
5		35.01	543420	Ácido cumarico
6		36.71	28354	No identificado
7		37.89	37726	No identificado
8		39.17	25371	No identificado
9		40.38	64150	Rutina
D-8 100 μmol/L MeJA	1	16.69	110382	No identificado
	2	28.67	109773	Ácido Siríngico
	3	31.26	198011	No identificado
	4	33.65	202191	No identificado
	5	35.02	459431	Ácido cumarico
	6	36.73	34279	No identificado
	7	37.91	41045	No identificado
	8	39.17	28717	No identificado
	9	40.31	62375	Rutina

Los controles -, + y el tratamiento de 100  $\mu$ M MeJA, no presentaron diferencias en las áreas de los compuestos identificados durante 8 días de alanceamiento (cuadro 31).

**Cuadro 31.** Comparación de áreas de los compuestos identificados en el perfil fenólico de tratamiento 100  $\mu$ M MeJA.

Tratamiento	Día	Nombre del compuesto	Área
Control -	0	Ácido Siríngico	121292 a
Control +	0	Ácido Siríngico	139464 a
100 $\mu$ M MeJA	0	Ácido Siríngico	198468 a
Control -	4	Ácido Siríngico	176519 a
Control +	4	Ácido Siríngico	77192 a
100 $\mu$ M MeJA	4	Ácido Siríngico	77192 a
Control -	8	Ácido Siríngico	172830 a
Control +	8	Ácido Siríngico	189713 a
100 $\mu$ M MeJA	8	Ácido Siríngico	109773 a
Control -	0	Ácido cumarico	773474 a
Control +	0	Ácido cumarico	508449 a
100 $\mu$ M MeJA	0	Ácido cumarico	1030957 a
Control -	4	Ácido cumarico	2375499 a
Control +	4	Ácido cumarico	324558 a
100 $\mu$ M MeJA	4	Ácido cumarico	400054 a
Control -	8	Ácido cumarico	595493 a
Control +	8	Ácido cumarico	543420 a
100 $\mu$ M MeJA	8	Ácido cumarico	459431 a
Control -	0	Rutina	75211 a
Control +	0	Rutina	39589 a
100 $\mu$ M MeJA	0	Rutina	80031 a
Control -	4	Rutina	68910 a
Control +	4	Rutina	44058 a
100 $\mu$ M MeJA	4	Rutina	59027 a
Control -	8	Rutina	100834 a
Control +	8	Rutina	64150 a
100 $\mu$ M MeJA	8	Rutina	62375 a

Como fitohormona endógena MeJA juega un papel clave en la regulación de una gran diversidad de procesos fisiológicos y bioquímicos en las plantas, incluida la estimulación de la biosíntesis de metabolitos secundarios. Se ha demostrado que el MeJA induce la biosíntesis de fenoles en berries (Larronde *et al.*, 2003) .

### **6.3 Efectos de la aplicación de la tecnología de Campos eléctricos pulsados en el control de *Botrytis cinerea*.**

De acuerdo con lo planeado en los procedimientos metodológicos; esta parte del proyecto analizó los efectos de la aplicación de diferentes tratamientos de campos eléctricos pulsados en el control poscosecha del desarrollo de *Botrytis cinerea* inoculado a frutos de zarzamora Cv ‘Sultana’ en estado fresco y almacenados por 4 días a 23 °C. De forma resumida los tratamientos señalados aplicados fueron los descritos en la sección 5.16 (Cuadro 4).

Los tratamientos T1, T2 y T3 utilizaban conjuntos de cinco frutas sometidas a una tensión eléctrica de 10 000, 7 500 y 5 000 volts respectivamente con una distancia entre los electrodos de 2.5 cm y tiempos de aplicación de 500  $\mu$ s; mientras que los tratamientos T4 y T5 utilizaban conjuntos de 25 frutas sometidas a 10 000 volts con distancias entre electrodos de 10 cm en ambos y tiempos de aplicación de 500 y 2500  $\mu$ s respectivamente. Todos los tratamientos fueron sometidos a 100 pulsos eléctricos bajo las condiciones descritas. Un tratamiento control lo constituyó un conjunto de cinco frutos suspendidos en agua por un tiempo similar al utilizado para realizar los tratamientos mencionados.

	<b>Control</b>	<b>T 1</b>	<b>T 2</b>	<b>T 3</b>	<b>T 4</b>	<b>T 5</b>
Voltaje (v)	0	10,000	7,500	5,000	10,000	10,000
Anchura ( $\mu$ s)	0	5	5	5	5	20
Frecuencia Hz	0	100	100	100	100	100

Nº de pulsos	0	100	100	100	100	100
Distancia de electrodos (cm)	0	2.5	2.5	2.5	10	10
Nº de frutos	5	5	5	5	25	25
Tiempo de aplicación de pulsos (µs)	0	500	500	500	500	2,500

### 6.3.1 Efectos de los CEP en la incidencia de *Botrytis cinerea*.

El análisis de varianza general de los datos de % de inhibición del crecimiento del hongo (% de frutos no infectados), mostró un efecto altamente significativo de los tratamientos de CEP, día de almacenamiento y de la interacción tratamiento\*día de almacenamiento (Cuadro 32).

La comparación de medias de la interacción tratamiento\*día de almacenamiento indicó que la aplicación de 100 pulsos de los campos eléctricos con tensiones de 10000 y 7500 Volts (Tratamientos T1 y T2) por 500 µs c/u y 2.5 cm de separación de los electrodos de carga, provocó un 80 % de inhibición de frutos infectados por *Botrytis cinerea* en comparación del grupo control que solo mostró un 40 % de inhibición (Cuadro 32 y Figura 33).

**Cuadro 32.** Análisis de varianza general del % de inhibición del crecimiento de *Botrytis cinerea* de los tratamientos de CEP en frutos de zarzamora cv 'Sultana' almacenados 4 días a 21 °C.

Fuente de v.	parámetros	GL	Σcuadrados	Valor F	p>F
Tratamiento	5	5	1652.000	2.740133e+14	<.0001
Día	1	1	37636.000	3.121297e+16	<.0001
Tratamiento*Día	5	5	1652.000	2.740133e+14	<.0001

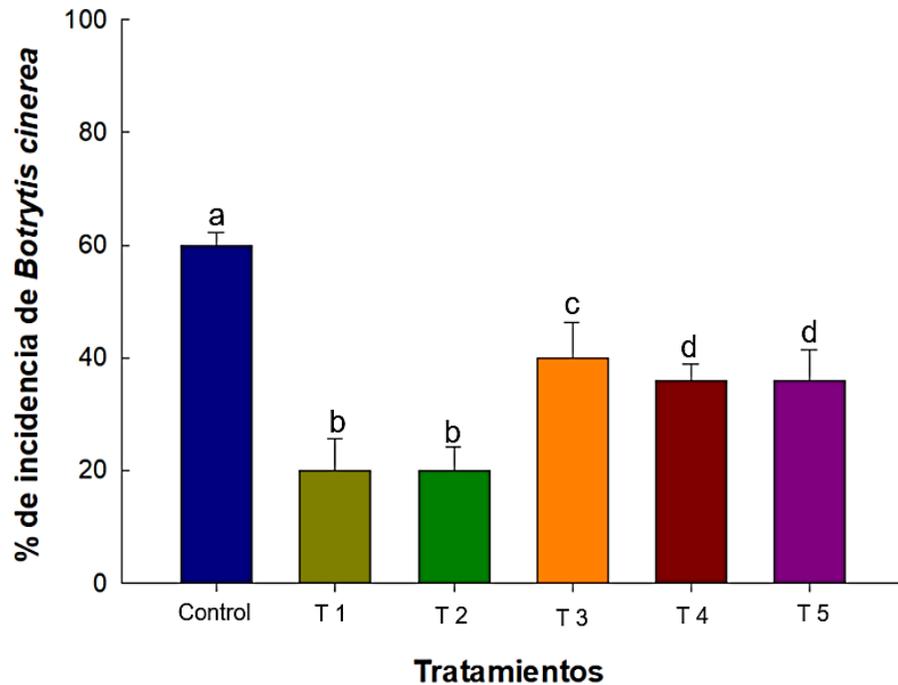
Tratamiento*día	% inhibición
T1,4	80.0a
T2,4	80.0a
T5,4	64.0b
T4,4	64.0b
T3,4	60.0c
Control,4	40.0d

Las aplicaciones de 100 pulsos de 5000 Volts por 500  $\mu$ s c/u con 2.5 cm de distancia de los electrodos de carga (tratamiento T3) mostraron una menor eficiencia para inhibir el crecimiento del hongo. Por otro lado, el tratamiento T4 con condiciones similares de aplicación al tratamiento T1 pero diferente número de frutos y mayor distancia entre los electrodos de carga (10 cm) disminuyó su eficiencia de inhibición del crecimiento del hongo en un 16 % y que el incremento del tiempo de aplicación de los pulsos de 500 a 2500 ms con la misma distancia de los electrodos de carga (tratamiento T5) y el mismo número de frutos, no mejoró los porcentajes de inhibición de crecimiento del hongo.

Todos estos datos en su conjunto sugieren que la aplicación de la tecnología de campos eléctricos pulsados para la inhibición del crecimiento de *Botrytis cinerea* fue mejor cuando se aplicaron 100 pulsos de tensiones de 7500 a 10000 Volts con una duración de 500  $\mu$ s c/pulso y utilizando una distancia entre los electrodos de carga de 2.5 cm. También estos datos mostraron que el incrementar el tiempo de aplicación de los pulsos de 500 a 2500  $\mu$ s y la distancia de los electrodos de aplicación, no mejoró el % de inhibición del crecimiento del hongo

Se observó inhibición de *Botrytis cinerea* en todos los tratamientos a los 4 días de almacenamiento a 21 °C, siendo el tratamiento 1 y 2 los que presentaron menor incidencia de *Botrytis cinerea* con el 66 % seguidos del tratamiento 3, 4 con el 36 % y el tratamiento 5 con el 40% siendo todos menores respecto al control (Figura 20). Estos resultados coinciden parcialmente con lo reportado por Jin *et al* en el 2017

donde obtuvieron una reducción de 3,5 y 3,1 log CFU/g en frutos de arándano inoculados con cultivos de  $10^6$  CFU de *E. Coli* y *Listeria innocua* respectivamente y sometidos al tratamiento de CEP con una intensidad de fuerza de  $2 \text{ kV cm}^{-1}$  durante 2 y 4 min.



**Figura 33.** Porcentaje de incidencia de *Botrytis cinerea* en frutos de zarzamora cv ‘Sultana’, almacenados durante 4 días a  $21^\circ \text{C}$ , después de la aplicación de 100 pulsos de campos eléctricos pulsados por  $500 \mu\text{s}$  c/u. T1, T2 y T3 frutos sometidos a 10 000, 7 500 y 5 000 volts y 2.5 cm de distancia de electrodos; T4 y T5 frutos sometidos a 10 000 volts con distancia entre los electrodos de 10 cm y tiempos de aplicación de  $500 \mu\text{s}$ . Las barras verticales representan los errores estándar de las medias. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ).

### 6.3.2 Cambios en la calidad del fruto. Reversión de color

Después de 5 horas de la aplicación de los campos eléctricos pulsados, los parámetros de calidad visual fueron afectados, los frutos presentaron reversión de

color en algunas drupeolas, y este desorden se incrementó hasta alcanzar el 100 % de reversión de color después de 2 de almacenamiento (Figura 34). En estudios realizados por Jin *et al.*, 2017 en frutos de arándano reportan que el tratamiento de campos eléctricos pulsados aumenta la permeabilidad de las membranas celulares debido al fenómeno de electroporación, al ocurrir este fenómeno se puede inducir la ruptura de los aglomerados de antocianinas, lo cual podría explicar la reversión de color observada (Flores-Sosa *et al.*,2021). Por ello, los tratamientos que inhibieron el crecimiento de *B. cinerea* hasta en un 80%, no se recomiendan para su uso, debido a que afecta el principal parámetro de calidad visual del fruto de zarzamora. Por ello, es necesario, realizar más estudios para optimizar el uso de esta técnica en el control de este patógeno en zarzamora.



**Figura 34.** Incidencia de reversión de color en frutos de zarzamora cv 'Sultana', después de 5 horas de ser tratados por diferentes campos eléctricos pulsados y almacenados 2 días de a 21 ° C.

Estos datos coinciden parcialmente con los resultados encontrados por Jin *et al* (2017) en frutos de arándano inoculados con  $10^6$  UFC de *E coli* y *Listeria innocua* suspendidos en una solución desinfectante de ácido peracético y tratados por

campos eléctricos pulsados de 2.0 kV/cm por 4 min en una secuencia de 100 pulsos por segundo y un ancho de pulso de 3 ms, logrando disminuir hasta en 3 log las poblaciones de los microorganismos, manteniendo la calidad de los frutos y aumentando el contenido de antocianinas totales. Basados en los resultados aquí encontrados y lo encontrado por estos autores, es posible que disminuyendo la intensidad de los campos eléctricos y utilizando un elemento desinfectante o la aplicación de MeJA se pueda mejorar los resultados obtenidos.

Aunque no están completamente descritas las bases mecanísticas de los efectos de los CEP sobre la estructura y fisiología de *Botrytis cinerea*; Evrendilek *et al.*, (2009) realizó observaciones sobre los efectos de diferentes CEP en néctares de cereza, chabacano y durazno inoculados con cultivos con  $10^5 - 10^6$  esporas  $\text{mL}^{-1}$  del hongo y tratados con campos de 17 a 34  $\text{kVcm}^{-1}$  con una duración de pulso de 3  $\mu\text{s}$  y una frecuencia de 500 pulsos por segundo observando una inhibición completa de la elongación del tubo germinal con fuerzas del campo eléctrico de 20, 23 y 27  $\text{kVcm}^{-1}$  para los medios en néctares de cereza, chabacano y durazno respectivamente así como una completa inhibición de la germinación de esporas con tiempos de tratamiento de 94, 123 y 218  $\mu\text{s}$  para los néctares de cereza, chabacano y durazno respectivamente.

Estos autores señalaron que a menor pH del medio, la inhibición de la germinación se ve favorecida y que pH mayores demanda tiempos de proceso e intensidad de campo mayores. Las observaciones microscópicas de las conidias del hongo tratado respecto del grupo control, señalaron una morfología degradada con grandes vesículas dentro de las paredes celulares, coagulación citoplásmica y encogimiento. De acuerdo con estos datos, es posible que la menor intensidad de los CEP utilizados en este estudio (7.5 a 10 kV) fue una posible causa de no alcanzar el 100 % de inhibición de la germinación de las esporas del hongo y aunque los tiempos de tratamiento fueron mayores (500  $\mu\text{s}$ ) esto no fue suficiente para lograr ese objetivo.

Angersbach *et al.*, (2000) establecieron que la aplicación de campos eléctricos pulsados de 400 a 800 V en tejidos de papa, manzana y pescado provocó una degradación irreversible de la membrana celular generando una electroporación del tejido y que la formación de canales conductivos ocurrió en nano segundos y que la formación de poros de mayor tamaño se llevó a cabo en microsegundos.

De acuerdo con lo anteriormente establecido, es necesario continuar realizando estudios con diferentes intensidades de campos de fuerza manipulando los tiempos de tratamiento y las características desinfectantes de la solución de suspensión de los frutos.

## 7. CONCLUSIONES

Los resultados del presente trabajo permitieron llegar a las siguientes conclusiones:

La aplicación de atmosferas modificadas activas (15 % de CO<sub>2</sub>+ aire) evitó la incidencia de *Botrytis cinerea*, durante 4 días a 10 °C y es una alternativa viable para el control del microorganismo en pos cosecha.

No obstante, es importante confirmar este resultado bajo condiciones de temperatura óptima de conservación para la zarzamora y verificar que se alcance una vida poscosecha de 2 semanas.

También este estudio señaló que deben de estudiarse materiales de plástico que permitan un mejor intercambio de O<sub>2</sub> sin alterar significativamente la composición de CO<sub>2</sub>.

Lo anterior es importante, dado que, aunque la atmósfera utilizada controló el desarrollo del patógeno, tuvo efectos de consideración en el color y en el contenido de antocianinas.

La aplicación poscosecha de metil jasmonato en 50 y 100 µmol/L en frutos de zarzamora, redujo de manera significativa (hasta en 4.6 %) la incidencia de *Botrytis cinerea* en los frutos y mejoró la firmeza de los mismos, sin afectar los factores de calidad visual (% de marchitez), pérdida de peso, AT y SST, el contenido y perfiles de antocianinas y fenoles.

Dado que este compuesto puede ser aplicado en forma de vapores en los almacenes de conservación de la fruta; este tratamiento también puede ser una alternativa viable para el control de *Botrytis cinerea* en el almacenamiento.

La aplicación de campos eléctricos pulsados con una intensidad de 7.5 a 10 kV en 100 pulsos por segundo y con una duración de 500 µs permitieron una inhibición de hasta el 80 % del desarrollo de *Botrytis cinerea*.

No obstante, estos tratamientos de CEP incrementaron la incidencia de reversión de color por lo que es necesario realizar más estudios para establecer las mejores condiciones que permitan lograr el control del desarrollo del hongo sin afectar la calidad visual del fruto.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. N. (1997). *Plant Pathology*. Academic Press. Saitan Diego. California, USA., 362-363.
- Aguiló-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R., y Martín-Belloso, O. (2010). Color and viscosity of watermelon juice treated by high-intensity pulsed electric fields or heat. *Innovative Food Science y Emerging Technologies*, 11(2), 299-305. DOI: 10.1016/j.ifset.2009.12.004
- Angersbach, A., Heinz, V., y Knorr, D. (2000). Effects of pulsed electric fields on cell membranes in real food systems. *Innovative Food Science y Emerging Technologies*, 1(2), 135-149. DOI: 10.1016/S1466-8564(00)00010-2
- Asghari, M., y Aghdam, M. S. (2010). Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural crops. *Trends in Food Science y Technology*, 21(10), 502-509. DOI: 10.1016/j.tifs.2010.07.009
- AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- Ayala-Zavala, J. F., Wang, S. Y., Wang, C. Y., & González-Aguilar, G. A. (2005). Methyl jasmonate in conjunction with ethanol treatment increases antioxidant capacity, volatile compounds and postharvest life of strawberry fruit. *European Food Research and Technology*, 221(6), 731-738. DOI: 10.1007/s00217-005-0069-z
- Babalar, M., Asghari, M., Talaei, A., & Khosroshahi, A. (2007). Effect of pre-and postharvest salicylic acid treatment on ethylene production, fungal decay and overall quality of Selva strawberry fruit. *Food chemistry*, 105(2), 449-453. DOI: doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.021
- Banda, K., Caleb, O.J., Jacobs, K., Opara, U.L., 2015. Effect of active-modified atmosphere packaging on the respiration rate and quality of pomegranate

- arils (cv. Wonderful). *Postharvest Biol. Technol.* 109, 97–105. DOI:10.1016/j.postharvbio.2015.06.002.
- Barka, E. A., Gognies, S., Nowak, J., Audran, J. C., and Belarbi, A. (2002). Inhibitory effect of endophyte bacteria on *Botrytis cinerea* and its influence to promote the grapevine growth. *Biol. Control* 24:135-142. DOI: 10.1016/S1049-9644(02)00034-8
- Barnes SE, Shaw ME (2003). Infection of commercial hybrid *Primula* seed by *Botrytis cinerea* and latent disease spread through the plants. *Phytopathology* 93:573–578. DOI: 10.1094/PHYTO.2003.93.5.573
- Barth, M., Hankinson, T. R., Zhuang, H., y Breidt, F. (2009). Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages. In *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages*. DOI: 10.1007/978-1-4419-0826-1
- Beever RE, Weeds PL (2004) Taxonomy and genetic variation of *Botrytis* and Botryotinia. In: Elad Y, Williamson B, Tudzynski P, Delen N (eds) *Botrytis: biology, pathology and control*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 30–31. DOI: 10.1007/978-1-4020-2626-3\_3
- Bernal, A. R. R., Contigiani, E. V., González, H. H., Alzamora, S. M., Gómez, P. L., y Raffellini, S. (2019). *Botrytis cinerea* response to pulsed light: Cultivability, physiological state, ultrastructure and growth ability on strawberry fruit. *International journal of food microbiology*, 309, 108311. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108311
- Belhadj, A., Telef, N., Saigne, C., Cluzet, S., Barrieu, F., Hamdi, S., & Mérillon, J. M. (2008). Effect of methyl jasmonate in combination with carbohydrates on gene expression of PR proteins, stilbene and anthocyanin accumulation in grapevine cell cultures. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46(4), 493-499. DOI: 10.1016/j.plaphy.2007.12.001

- Berrie, A.M., Harris, D.C. and Xu, X.M. (2002). A potential system for managing *Botrytis* and powdery mildew in main season strawberries. *Acta Hort.* 567, 647–649. DOI: 10.17660/ActaHortic.2002.567.140
- Blanch G. P., G. Flores, and Ma. L. Ruiz del Castillo. (2011). Influence of methyl jasmonate in conjunction with ethanol on the formation of volatile compounds in berries belonging to the Rosaceae. *Postharvest Biology and Technology* 62: 168–178. doi:10.1016/j.postharvbio.2011.05.003
- Boff, P., de Kraker, J., Gerlagh, M., and Kohl, J. (2003). The role of petals in development of gray mould in strawberries. *Fitopatol. Bras.* 28:76-83. DOI: 10.1590/S0100-41582003000100011
- Brackmann, A., Anese, R. D. O., Both, V., Thewes, F. R., y Fronza, D. (2012) a. Atmosfera controlada para o armazenamento de goiaba cultivar 'Paluma'. *Revista Ceres*, 59 (2), 151-156. DOI: 10.1590/S0034-737X2012000200001
- Brackmann, A., Anese, R. D. O., Thewes, F. R., Fronza, D., y Hamann, J. J. (2016) c. Storability of 'Tupy' and 'Guarani' blackberries in controlled atmosphere. *Bragantia*, 75(2), 240-246. DOI: 10.1590/1678-4499.321
- Calvo-Garrido, C., Usall, J., Viñas, I., Elmer, P. A., Cases, E., y Teixidó, N. (2013). Potential secondary inoculum sources of *Botrytis cinerea* and their influence on bunch rot development in dry Mediterranean climate vineyards. *Pest management science*, 70(6), 922-930. DOI: 10.1002/ps.3629
- Calvo-Garrido, C., Viñas, I., Elmer, P. A., Usall, J., y Teixidó, N. (2014). Suppression of *Botrytis cinerea* on necrotic grapevine tissues by early-season applications of natural products and biological control agents. *Pest Management Science*, 70(4), 595–602. DOI: 10.1002/ps.3587
- Cao, X., Huang, R., y Chen, H. (2019). Evaluation of food safety and quality parameters for shelf-life extension of pulsed light treated

strawberries. *Journal of food science*, 84(6), 1494-1500. DOI: 10.1111/1750-3841.14613

Cartwright, E. J., Jackson, K. A., Johnson, S. D., Graves, L. M., Silk, B. J., y Mahon, B. E. (2013). Listeriosis outbreaks and associated food vehicles, United States, 1998–2008. *Emerging infectious diseases*, 19(1), 1. DOI: 10.3201/eid1901.120393

Center for Food Safety and Applied Nutrition (2017). Control of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: guidance for industry draft guidance. *Int J Pharm Biol Arch* 3,1–49.

Champa, W. H., Gill, M. I. S., Mahajan, B. V. C., y Arora, N. K. (2015). Preharvest salicylic acid treatments to improve quality and postharvest life of table grapes (*Vitis vinifera* L.) cv. Flame Seedless. *Journal of food science and technology*, 52(6), 3607-3616. DOI: 10.1007/s13197-014-1422-7

Chan, Y. C., y Wiedmann, M. (2008). Physiology and genetics of *Listeria monocytogenes* survival and growth at cold temperatures. *Critical reviews in food science and nutrition*, 49(3), 237-253. DOI: 10.1080/10408390701856272

Chen, C., Cao, Z., Li, J., Tao, C., Feng, Y., Han, Y., (2020). A novel endophytic strain of *Lactobacillus plantarum* CM-3 with antagonistic activity against *Botrytis cinerea* on strawberry fruit. *Biol. Control* 148, 1–10. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2020.104306

Chen, F., Zeng, L., Zhang, Y., Liao, X., Ge, Y., Hu, X., y Jiang, L. (2009). Degradation behaviour of methamidophos and chlorpyrifos in apple juice treated with pulsed electric fields. *Food Chemistry*, 112(4), 956-961. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.07.016

Chen, X., Wang, Y., Gao, Y., Gao, T., Zhang, D., (2019). Inhibitory abilities of *Bacillus* isolates and their culture filtrates against the gray mold caused by

- Botrytis cinerea* on Postharvest Fruit. Plant Pathol. J. 35, 425. DOI: 10.5423/PPJ.OA.03.2019.0064
- Chou MC, Preece TF (2008). The effect of pollen grains on infection caused by *Botrytis cinerea* FR. Ann Appl Biol 62:11–22. DOI: 10.1111/j.1744-7348.1968.tb03846.x
- Chowdhury, MEK, and H.Bae , (2018). Endófitos bacterianos aislados de montaña El ginseng cultivado ( *Panax ginseng* Mayer) tiene potencial de control biológico contra ginsen patógenos. Biol. Control 126, 97-108.
- Ciliberti, N., Fermaud, M., Roudet, J., and Rossi, V. (2015). Environmental conditions affect *Botrytis cinerea* infection of mature grape berries more than the strain or transposongenotype. Phytopathology 105:10901096. DOI: 10.1094/PHYTO-10-14-0264-R
- Civello, PM, Martínez, GA, Chaves, AR y Añón, MC (1997). Los tratamientos térmicos retrasan la maduración y la descomposición poscosecha de la fruta de fresa. *Revista de química agrícola y alimentaria*, 45 (12), 4589-4594.
- Clark, J. R., y Finn, C. E. (2014). Blackberry cultivation in the world. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(1), 46-57. DOI: 10.1590/0100-2945-445/13
- Collins, J. K., Perkins-Veazie, P., & Roberts, W. (2006). Lycopene: from plants to humans. *HortScience*, 41(5), 1135-1144. DOI: 10.21273/HORTSCI.41.5.1135
- Concha-Meyer, A., Eifert, J. D., Williams, R. C., Marcy, J. E., y Welbaum, G. E. (2015). Shelf-life determination of fresh blueberries (*Vaccinium corymbosum*) stored under controlled atmosphere and ozone. *International journal of foodscience*, 2015. DOI: 10.1155/2015/164143
- Cordova, L. G., Amiri, A., y Peres, N. A. (2017). Effectiveness of fungicide treatments following the Strawberry Advisory System for control of *Botrytis* fruit rot in Florida. *Crop Protection*, 100, 163–167. DOI: 10.1016/j.cropro.2017.07.002

- Cortellino, G., Gobbi, S., Bianchi, G., & Rizzolo, A. (2015). Modified atmosphere packaging for shelf life extension of fresh-cut apples. *Trends in Food Science & Technology*, 46(2), 320-330. DOI: 10.1016/j.tifs.2015.06.002
- Daniels J. A., R. Krishnamurthi & S. S. H. Rizvi. (1985). A Review of Effects of Carbon Dioxide on Microbial Growth and Food Quality. *Journal of Food Protection*. 48(6): 532-537. DOI:10.4315/0362-028X-48.6.532
- Da Rocha Neto, A. C., Luiz, C., Maraschin, M., y Di Piero, R. M. (2016). Efficacy of salicylic acid to reduce *Penicillium expansum* inoculum and preserve apple fruits. *International Journal of Food Microbiology*, 221, 54-60. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.01.007
- De la Pena Moreno, F., Monagas, M., Blanch, G. P., Bartolomé, B., & Ruiz del Castillo, M. L. (2010). Enhancement of anthocyanins and selected aroma compounds in strawberry fruits through methyl jasmonate vapor treatment. *European Food Research and Technology*, 230(6), 989-999. DOI: 10.1007/s00217-010-1243-5
- Dean, R., Van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., and Foster, G. (2012). The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 13:414-430.. DOI: org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x
- Delbeke, S., Ceuppens, S., Hessel, C. T., Castro, I., Jacxsens, L., De Zutter, L., y Uyttendaele, M. (2015). Microbial safety and sanitary quality of strawberry primary production in Belgium: Risk factors for Salmonella and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* contamination. *Applied and environmental microbiology*, 81(7), 2562-2570. DOI:10.1128/AEM.03930-14
- Diaconeasa, Z. O. R. I. Ţ. A., Florica, R. A. N. G. A., Rugina, D., Lucian, C. U. I. B. U. S., y Socaciu, C. A. R. M. E. N. (2014). Hplc/pda-esi/ms identification of phenolic acids, flavonol glycosides and antioxidant potential in blueberry,

- blackberry, raspberries and cranberries. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2(11), 781-785. DOI: 10.12691/jfnr-2-11-4
- Dik, A.J. and Wubben, J.P. (2004) Epidemiology of *Botrytis cinerea* diseases in greenhouses. In: *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. (Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. and Delen, N., eds), pp. 319–333. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Press. DOI: 10.1007/978-1-4020-2626-3\_17
- Dumoulín, G. P., Saucedo, V., Ayala, V., & Muratalla, A. (2001). Atmósferas controladas para combatir daños postcosecha en Zarzamora (*Rubus* sp.). *Revista de la Facultad de Agronomía*, 18(2).
- Ding, CK, Wang, CY, Gross, KC y Smith, DL (2001). Reduction of chilling injury and transcript accumulation of heat shock proteins in tomato fruit by methyl jasmonate and methyl salicylate. *Ciencia vegetal*, 161 (6), 1153-1159. DOI: 10.1016/S0168-9452(01)00521-0
- Ding, CK, Wang, C., Gross, KC y Smith, DL (2002). Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. *Planta. Planta*, 214 (6), 895-901. DOI: 10.1007/s00425-001-0698-9
- Dou Z. M., Ch. Chen, Q. Huang, and X. Fu. (2021). Comparative study on the effect of extraction solvent on the physicochemical properties and bioactivity of blackberry fruit polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*. 183. 1548-1559. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2021.05.131
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). (2013). Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 1 (outbreak data analysis and risk ranking of food/pathogen combinations). *EFSA Journal*, 11(1), 3025. DOI:10.2903/j.efsa.2013.3025

- Elizabeth J. Mitcham, Carlos H. Crisosto and Adel A. Kader. Postharvest *Technology Center*. (2020). *Página de internet*: [http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity\\_Resources/Fact\\_Sheets/Datastores/Fruit\\_English/?uid=12&ds=798](http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/Datastores/Fruit_English/?uid=12&ds=798). Consultada: 18 de enero 2021.
- Ellis, M. A., Madden, L. V., Wright, S. R., and Wilson, L. L. (2008). Efficacy of pre-harvest fungicide applications and cold storage for post-harvest control of *Botrytis* fruit rot (gray mold) on red raspberry. *Plant Health Progress*. DOI: 10.1094/PHP-2008-1015-01-RS
- El-Mogy, M. M., Ali, M. R., Darwish, O. S., & Rogers, H. J. (2019). Impact of salicylic acid, abscisic acid, and methyl jasmonate on postharvest quality and bioactive compounds of cultivated strawberry fruit. *Journal of Berry Research*, 9(2), 333-348. DOI: 10.3233/JBR-180349
- Ethelberg, S., Lisby, M., Böttiger, B., Schultz, A. C., Villif, A., Jensen, T., ... y Muller, L. (2010). Outbreaks of gastroenteritis linked to lettuce, Denmark, January 2010. *Eurosurveillance*, 15(6), 19484.
- Evrendilek G.A., F.M., Tok, E.M. Soylu, and S. Soylu. (2009). Effect of Pulsed electric fields on germination tube elongation and spore germination of *Botrytis cinerea* inoculated into sour cherry Juice, apricot and peach nectars. *Ital. J. Food Sci.* 2(21): 171-182.
- Fagundes, C., Moraes, K., Pérez-Gago, M. B., Palou, L., Maraschin, M., & Monteiro, A. R. (2015). Effect of active modified atmosphere and cold storage on the postharvest quality of cherry tomatoes. *Postharvest Biology and Technology*, 109, 73-81. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2015.05.017
- FAOSTAT. (2010). *Página de internet*: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> Consultada: 03 de febrero 2021.

- Faretra F, Antonacci E, Pollastro S (1988). Sexual behaviour and mating system of *Botryotinia fuckeliana*, teleomorph of *Botrytis cinerea*. *Microbiology* 134:2543–2550. DOI: 10.1099/00221287-134-9-2543
- Fermaud M, le Menn R (1992) Transmission of *Botrytis cinerea* to grapes by grape berry moth larvae. *Phytopathology* 82:1393–1398
- Fillinger, S., y Elad, Y. (Eds.). (2016). *Botrytis*-the fungus, the pathogen and its management in agricultural systems (pp. 189-216). Switzerland: Springer International Publishing. DOI: 10.1007/978-3-319-23371-0
- Finn, C.E. 2008. *Rubus* spp., Blackberry. In: Janick, J. and Paull, R.E., editors. *The Encyclopedia of Fruits and Nuts*. Cambridge, MA. CABI. p. 348-351.
- Flores-Sosa, A. R., Soto-Magaña, D., Gonzalez-de la Vara, L. E., Sanchez-Segura, L., Bah, M., Rivera-Pastrana, D. M., ... & Mercado-Silva, E. M. (2021). Red drupelet reversion in blackberries caused by mechanical damage is not linked to a reduction in anthocyanin content. *Postharvest Biology and Technology*, 180, 111618. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2021.111618
- Flores-Sosa, A.R.; Fabela-Gallegos, M.J.; Cruz-Acevedo, M.E.; Rivera-Pastrana, D.M.; Nava, G.M.; Mercado-Silva, E.M. (2022). A Portable Vibration System to Induce and Evaluate Susceptibility to Red Drupelet Reversion in Blackberry Cultivars. *Horticulturae*, 8(7): 631. DOI:10.3390/horticulturae8070631
- Forney C. F. (2008). Postharvest issues in blueberry and cranberry and methods to improve market-life. In: Hummer K. E., editor. *IX International Vaccinium Symposium*. Vol. 810. ISHS. pp. 785–798. DOI: 10.17660/ActaHortic.2009.810.105
- Fonseca, S. C., Oliveira, F. A., y Brecht, J. K. (2002). Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. *Journal of food engineering*, 52(2), 99-119. DOI: 10.1016/S0260-8774(01)00106-6

- Franco-Gaytán, I., Saucedo-Veloz, C., Calderón-Zavala, G., Cruz-Huerta, N., Teliz-Ortiz, D., y Galicia-Cabrera, R. M. (2017). Calidad y vida de anaquel de tres cultivares de fresa (*Fragaria ananassa*) tratadas con concentraciones altas de CO<sub>2</sub> por periodo corto. *Agrociencia*, 52(3), 393-406.
- García Espejel, F., Saucedo Veloz, C., Saucedo Reyes, D., y Chávez Franco, S. H. (2017). Calidad de frutos de dos variedades de fresa mexicana y una introducida frigoconservados en alto CO<sub>2</sub>. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(4), 747-757.
- García-Pastor, M. E., Giménez, M. J., Zapata, P. J., Guillén, F., Valverde, J. M., Serrano, M., y Valero, D. (2020). Preharvest application of methyl salicylate, acetyl salicylic acid and salicylic acid alleviated disease caused by *Botrytis cinerea* through stimulation of antioxidant system in table grapes. *International Journal of Food Microbiology*, 334, 108807. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108807
- Gardes M and Bruns TD. (1993). ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* 2(2): 113–118. DOI: 10.1111/j.1365-294X.1993.tb00005.x
- Garner, D., y Kathariou, S. (2016). Fresh produce–associated listeriosis outbreaks, sources of concern, teachable moments, and insights. *Journal of Food Protection*, 79(2), 337-344. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-15-387
- Garvey, M., Stocca, A., y Rowan, N. (2014). Development of a combined in vitro cell culture–Quantitative PCR assay for evaluating the disinfection performance of pulsed light for treating the waterborne enteroparasite *Giardia lamblia*. *Experimental parasitology*, 144, 6-13. DOI: 10.1016/j.exppara.2014.06.001
- Geransayeh, M., Sepahvand, S., Abdossic, V., & Zarriniad, V. (2015). Effect of methyl jasmonate treatment on decay, post-harvest life and quality of

- Strawberry (*Fragaria ananassa* L. cv. Gaviota) fruit. *Int. J. Curr. Sci*, 15, 123-131.
- Gholamnezhad, J. (2019). Effect of plant extracts on activity of some defense enzymes of apple fruit in interaction with *Botrytis cinerea*. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(1), 115-123. DOI: 10.1016/S2095-3119(18)62104-5
- Giusti, M. M., y Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*, (1), F1-2. DOI: 10.1002/0471142913.faf0102s00
- Gombas, D. E., Chen, Y., Clavero, R. S., y Scott, V. N. (2003). Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *Journal of food protection*, 66(4), 559-569. DOI: 10.4315/0362-028X-66.4.559
- Gómez, P. L. M. (2001). Desarrollo de un estudio epidemiológico en *Botrytis cinerea*, agente causal del moho gris en mora de castilla *Rubus glaucus* Benth., en los municipios de Manizales y Villa María. Manizales. HAUSBECK M. K. y G. W. MOORMAN. 1996. Managing *Botrytis* in greenhouse grown flower crops. *Plant Diseases*, 80: 1212-1219
- González-Aguilar, G. A., Fortiz, J., Cruz, R., Baez, R., & Wang, C. Y. (2000). Methyl jasmonate reduces chilling injury and maintains postharvest quality of mango fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(2), 515-519. DOI: 10.1021/jf9902806
- Gould, A. B., Kobayashi, D. Y., and Bergen, M. S. (1996). Identification of bacteria for biological control of *Botrytis cinerea* on petunia using a petal disk assay. *Plant Dis.* 80:1029-1033. <https://doi.org/10.1094/PD-80-1029>.
- Gubler, W.D., Marois, J.J., Bledsoe, A.M. and Bettiga, L.J. (1987) Control of *Botrytis* bunch rot of grape with canopy management. *Plant Dis.* 71, 599–60. DOI: 10.1094/PD-71-0599

- Guo, M., Jin, T. Z., Geveke, D. J., Fan, X., Sites, J. E., y Wang, L. (2014). Evaluation of microbial stability, bioactive compounds, physicochemical properties, and consumer acceptance of pomegranate juice processed in a commercial scale pulsed electric field system. *Food and Bioprocess Technology*, 7(7), 2112-2120. DOI: 10.1007/s11947-013-1185-6
- Gupta, K. J., Zabalza, A., y Van Dongen, J. T. (2009). Regulation of respiration when the oxygen availability changes. *Physiologia Plantarum*, 137(4), 383-391. DOI: 10.1111/j.1399-3054.2009.01253.x
- Gurtler, J. B., Bailey, R. B., Jin, T. Z., y Fan, X. (2014). Reduction of an E. coli O157: H7 and Salmonella composite on fresh strawberries by varying antimicrobial washes and vacuum perfusion. *International journal of food microbiology*, 189, 113-118. DOI: oi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.08.005
- Gurtler, J. B., Harlee, N. A., Smelser, A. M., y Schneider, K. R. (2018). Salmonella enterica contamination of market fresh tomatoes: A review. *Journal of food protection*, 81(7), 1193-1213. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-17-395
- Gurtler, J. B., Rivera, R. B., Zhang, H. Q., y Geveke, D. J. (2010). Selection of surrogate bacteria in place of E. coli O157: H7 and Salmonella Typhimurium for pulsed electric field treatment of orange juice. *International Journal of Food Microbiology*, 139(1-2), 1-8. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.023
- Hammerschmidt, (1999). Phytoalexins. What Have We Learned After 60 Years Annual Review Phytopathology. 37: 285-306. DOI: 10.1146/annurev.phyto.37.1.285
- Handa, A. K., Tiznado-Hernández, M. E., & Mattoo, A. K. (2011). Fruit development and ripening: a molecular perspective. In A. Altman and P. M. Hasegawa, (Eds), *Plant Biotechnology and Agriculture*. Oxford: Academic Press, pp. 405-424. DOI: 10.1016/B978-0-12-381466-1.00026-2

- Hahn, M. (2014). The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: *Botrytis* as a case study. *Journal of chemical biology*, 7(4), 133-141. DOI: 10.1007/s12154-014-0113-1
- Hamilton-Miller, J. M. T., y Shah, S. (2001). Identity and antibiotic susceptibility of enterobacterial flora of salad vegetables. *International journal of antimicrobial agents*, 18(1), 81-83. DOI: 10.1016/S0924-8579(01)00353-3
- Hayat, S., y Ahmad, A. (Eds.). (2007). *Salicylic acid-a plant hormone*. Springer Science y Business Media. <https://doi.org/10.1007/s12154-014-0113-1>
- Heidenreich, C., Pritts, M., Demchak, K., y Hanson, E. (2012). High tunnel raspberries and blackberries. Cornell University Department of Horticulture. Ithaca, NY. 17(3), 13–16.
- Hernandez Martínez Vanesa. (2019). Análisis morfológicos y moleculares de microorganismos asociados al deterioro de zarzamora (*Rubus sp*). Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca.
- Holcroft, D.M., and A. A. Kader. (1999). Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of stored strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology* 17: 19–32. DOI:10.1016/S0925-5214(99)00013123-X
- Holtz G, Coertze S, Williamson B (2004). The ecology of *Botrytis* on plant surfaces. In: Elad Y, Williamson B, Tudzynski P, Delen N (eds) *Botrytis: biology, pathology and control*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 9–24. DOI: 10.1007/978-1-4020-2626-3\_2
- Holvoet, K., Sampers, I., Seynaeve, M., y Uyttendaele, M. (2014). Relationships among hygiene indicators and enteric pathogens in irrigation water, soil and lettuce and the impact of climatic conditions on contamination in the lettuce primary production. *International journal of food microbiology*, 171, 21-31. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.009

- Hsiang T, Chastagner GA (1992). Production and viability of sclerotia from fungicide resistant and sensitive isolates of *B. cinerea*, *B. elliptica* and *B. tulipae*. *Plant Pathol* 41:600–605. DOI: 10.1111/j.1365-3059.1992.tb02459.x
- Hsu, H. Y., Huang, L., y Wu, J. S. B. (2014). Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 in strawberry pureé and its effect on anthocyanins and color. *Journal of food science*, 79(1), M74-M80. DOI: 10.1111/1750-3841.12327
- Hummer, K. E., y Janick, J. (2006, August). *Rubus* iconography: antiquity to the Renaissance. In *XXVII International Horticultural Congress-IHC2006: Global Horticulture: Diversity and Harmony, an Introduction to IHC2006 759* (pp. 89-106). DOI: 10.17660/ActaHortic.2007.759.6
- Ibraheem, F.; Gaffoor, I.; Tan, Q.; Shyu, C.-R.; Chopra, S. (2015) A Sorghum MYB Transcription Factor Induces 3-Deoxyanthocyanidins and Enhances Resistance against Leaf Blights in Maize. *Molecules* 20, 2388-2404.
- Ismail, Amr A. "Preharvest Application of Ethephon and SADH on Ripening and Quality of Lowbush Blueberry Fruit1." *HortScience* 9.3 (1974): 205-206. DOI: 10.21273/HORTSCI.9.3.205
- Jarvis, W. R. (1962). The infection of strawberry and raspberry fruits by *Botrytis cinerea* Fr. *Ann. Appl. Biol.* 50:569-575. DOI: 10.1111/j.1744-7348.1962.tb06049.x
- Jersch, S., Scherer, C., Huth, G., & Schlösser, E. (1989). Proanthocyanidins as basis for quiescence of *Botrytis cinerea* in immature strawberry fruits / Proanthocyanidine als Ursache der Quieszenz von *Botrytis cinerea* in unreifen Erdbeerfrüchten. *Zeitschrift Für Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz / Journal of Plant Diseases and Protection*, 96(4), 365–378. <http://www.jstor.org/stable/43385737>

- Jin, T. Z., Yu, Y., y Gurtler, J. B. (2017). Effects of pulsed electric field processing on microbial survival, quality change and nutritional characteristics of blueberries. *LWT*, 77, 517-524. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.12.009
- Jin, T., Zhang, H., Hermawan, N., y Dantzer, W. (2009). Effects of pH and temperature on inactivation of Salmonella typhimurium DT104 in liquid whole egg by pulsed electric fields. *International journal of food science y technology*, 44(2), 367-372. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2008.01759.x
- Jofré, A., Garriga, M., Aymerich, T., Pérez-Rodríguez, F., Valero, A., Carrasco, E., y Bover-Cid, S. (2016). Closing gaps for performing a risk assessment on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat (RTE) foods: activity 1, an extensive literature search and study selection with data extraction on *L. monocytogenes* in a wide range of RTE food. *EFSA Supporting Publications*, 13(12), 1141E. DOI: 10.2903/sp.efsa.2016.EN-1141
- Joo M., N. Lewandowski, R. Auras, J. Harte, and E. Almenar. (2011). Comparative shelf life study of blackberry fruit in bio-based and petroleum-based containers under retail storage conditions. *Food Chemistry* 126: 1734–1740. DOI:10.1016/j.foodchem.2010.12.071
- Junqueira-Gonçalves, M. P., Alarcón, E., y Niranjana, K. (2016). The efficacy of potassium sorbate-coated packaging to control postharvest gray mold in raspberries, blackberries and blueberries. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 205-208. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2015.09.014
- Kozhar, O., & Peever, T. L. (2018). How does *Botrytis cinerea* infect red raspberry?. *Phytopathology*, 108(11), 1287-1298. DOI:10.1094/phyto-01-18-0016-r
- Kuehn, B. M. (2014). FDA moves to curb antibiotic use in livestock. *Jama*, 311(4), 347-348. DOI: 10.1001/jama.2013.285704

- Lafarga, T., Colás-Medà, P., Abadias, M., Aguiló-Aguayo, I., Bobo, G., y Viñas, I. (2019). Strategies to reduce microbial risk and improve quality of fresh and processed strawberries: A review. *Innovative Food Science y Emerging Technologies*, 52, 197-212. DOI: 10.1016/j.ifset.2018.12.012
- Larronde, F., Gaudillère, J. P., Krisa, S., Decendit, A., Deffieux, G., & Mérillon, J. M. (2003). Airborne methyl jasmonate induces stilbene accumulation in leaves and berries of grapevine plants. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54(1), 63-66. DOI: 10.5344/ajev.2003.54.1.63
- Lawrence, B., & Melgar, J. C. (2018). Harvest, handling, and storage recommendations for improving postharvest quality of blackberry cultivars. *HortTechnology*, 28(5), 578-583. DOI: 10.21273/HORTTECH04062-18
- Lebovka, N. I., Praporscic, I., y Vorobiev, E. (2004). Combined treatment of apples by pulsed electric fields and by heating at moderate temperature. *Journal of Food Engineering*, 65(2), 211-217. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2004.01.017
- Ledesma Valladolid J. P. (2019). Efecto de atmósferas controladas y ricas en especies reactivas de oxígeno en las características químicas y bioquímicas y calidad poscosecha de frutos de zarzamora (*Rubus* sp.). Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro . Facultad de Química.
- Leroch, M., Kretschmer, M. and Hahn, M. (2011). Fungicide resistance phenotypes of *Botrytis cinerea* isolates from commercial vineyards in South West Germany. *J. Phytopathol.* 159, 63–65. DOI: 10.1111/j.1439-0434.2010.01719.x
- Leroux, P., Fritz, R., Debieu, D., Albertini, C., Lanen, C., Bach, J., y Chapeland, F. (2002). Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*. *Pest management science*, 58(9), 876-888. DOI: 10.1002/ps.566

- Li, Y., y Wu, C. (2013). Enhanced inactivation of *Salmonella* Typhimurium from blueberries by combinations of sodium dodecyl sulfate with organic acids or hydrogen peroxide. *Food Research International*, 54(2), 1553–1559. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.09.012
- Li, H., Yin, Y., Affandi, F., Zhong, C., Schouten, R., & Woltering, E. (2022). High CO<sub>2</sub> Reduces Spoilage Caused by *Botrytis cinerea* in Strawberry Without Impairing Fruit Quality. *Frontiers in Plant Science*, 13. DOI: 10.3389/fpls.2022.842317
- Liu, S., Yang, Y., Murayama, H., Taira, S., y Fukushima, T. (2004). Effects of CO<sub>2</sub> on respiratory metabolism in ripening banana fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 33(1), 27-34. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2004.01.006
- Lovett, J., Francis, D. W., y Hunt, J. M. (1987). *Listeria monocytogenes* in raw milk: detection, incidence, and pathogenicity. *Journal of Food Protection*, 50(3), 188-192. DOI: 10.4315/0362-028X-50.3.188
- Maguire, K. M., Banks, N. H., Lang, A. and Gordon, I. L. (2000). Harvest date, cultivar, orchard and tree effects on water vapor permanence in apples. *Journal of the America Society for Horticultural Science*, 125, 100-104. DOI: 10.21273/JASHS.125.1.100
- Muratalla-Lúa, A., Jaen-Contreras, D., y Arévalo-Galarza, L. (2013). La producción de frambuesa y zarzamora en México. *Agroproductividad*, 6(5), 3-13.
- Marouani-Gadri, N., Firmesse, O., Chassaing, D., Sandris-Nielsen, D., Arneborg, N., y Carpentier, B. (2010). Potential of *Escherichia coli* O157: H7 to persist and form viable but non-culturable cells on a food-contact surface subjected to cycles of soiling and chemical treatment. *International journal of food microbiology*, 144(1), 96-103. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.002

- Meyer U, Spotts RA, Dewey FM (2000). Detection and quantification of *Botrytis cinerea* by ELISA in Pear Stems During cold storage. *Plant Dis* 84:1099–1103. DOI: 10.1094/PDIS.2000.84.10.1099
- Milivojevic, J. M., Nikolic, M. D., Maksimovic, J. J. D., y Radivojevic, D. D. (2011). Generative and fruit quality characteristics of primocane fruiting red raspberry cultivars. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 35(3), 289-296. DOI: 10.3906/tar-1001-617
- Min, D., Li, F., Zhang, X., Shu, P., Cui, X., Dong, L., ... y Li, J. (2018). Effect of methyl salicylate in combination with 1-methylcyclopropene on postharvest quality and decay caused by *Botrytis cinerea* in tomato fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(10), 3815-3822. DOI: 10.1002/jsfa.8895
- Mitcham, E. J., C. H. Crisosto y A. Kader. (1998). Bushberries. Recommendations to maintaining postharvest quality. [http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity\\_Resources/Fact\\_Sheets/Datastores/Fruit\\_English/?uid=12&ds=798](http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/Datastores/Fruit_English/?uid=12&ds=798). Consultado 25 febrero 2021
- Molina, G. S., de La Rotta, M. C. F., y Torres, E. (2004). Incidencia de infecciones quiescentes de *Botrytis cinerea* en flores y frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth.). *Agronomía Colombiana*, 22(2), 101-109.
- Morales-Cedeño ,R. , M.C., Orozco-Mosqueda, , PD Loeza-Lara, FI Parra-Cota, , de los Santos-Villalobos S. y Santoyo , G. ( 2020 ). Plant growth-promoting bacterial endophytes as biocontrol agents of pre- and post-harvest diseases: fundamentals, methods of application and future perspectives. *Microbiol. Res.* , 242 , pág. 126612. DOI: 10.1016/j.micres.2020.126612
- Moser, R., Pertot, I., Elad, Y. and Raffaelli, R. (2008). Farmers' attitudes toward the use of biocontrol agents in IPM strawberry production in three countries. *Biol. Control*. 47, 125–132. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2008.07.012

- Munoz-Robredo, P., Gudenschwager, O., Chervin, C., Campos-Vargas, R., González-Agüero, M., y Defilippi, B. G. (2013). Study on differential expression of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase genes in table grape cv. Thompson Seedless. *Postharvest biology and technology*, 76, 163-169. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2012.10.006
- Muratalla-Lúa, A. (2013). La producción de frambuesa y zarzamora en México. *Agro Productividad*, 6(5).
- Nazar, R., Iqbal, N., y Khan, N. A. (Eds.). (2017). *Salicylic Acid: A Multifaceted Hormone*. Springer Singapore. DOI: 10.1007/978-981-10-6068-7
- Oliveira, M., Rodrigues, C. M., y Teixeira, P. (2019). Microbiological quality of raw berries and their products: A focus on foodborne pathogens. *Heliyon*, 5(12), e02992. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e02992
- Oliveira, M., Usall, J., Vinas, I., Anguera, M., Gatiús, F., y Abadías, M. (2010). Microbiological quality of fresh lettuce from organic and conventional production. *Food Microbiology*, 27(5), 679-684. DOI: 10.1016/j.fm.2010.03.008
- Oms-Oliu, G., Martín-Belloso, O., y Soliva-Fortuny, R. (2010). Pulsed light treatments for food preservation. A review. *Food and Bioprocess Technology*, 3(1), 13-23. DOI: 10.1007/s11947-008-0147-x
- Ortiz -Solà, J., Viñas, I., Colás -Medà, P., Anguera, M., y Abadías, M. (2019). Occurrence of selected viral and bacterial pathogens and microbiological quality of fresh and frozen strawberries sold in Spain. *Int. J. Food Microbiol.*, in press. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108392
- Ozkaya, O., Dündar, O., Scovazzo, G. C., & Volpe, G. (2009). Evaluation of quality parameters of strawberry fruits in modified atmosphere packaging during storage. *African Journal of Biotechnology*, 8(5): 789-793.

- Pane C, Spaccini R, Piccolo A, Scala F, Bonanomi G. 2011. Compost amendments enhance peat suppressiveness to *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia minor*. *Biological Control*, 56, 115–124. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2010.10.002
- Peacock, E., Jacob, V. W., y Fallone, S. M. (2001). *Escherichia coli* O157: H7: etiology, clinical features, complications, and treatment. *Nephrology Nursing Journal*, 28(5), 547.
- Pennington, H. (2010). *Escherichia coli* O157. *The Lancet*, 376(9750), 1428-1435. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60963-4
- Pérez-Pérez G.A., M.J. Fabela-Gallegos, M.E. Vázquez-Barrios, D.M. Rivera-Pastrana, L. Palma-Tirado, E. Mercado-Silva, and V. Escalona. (2018). Effect of the transport vibration on the generation of the color reversion in blackberry fruit. *Acta Hortic.* 1194. ISHS 2018. 1329-1336. DOI: 10.17660/ActaHortic.2018.1194.187
- Pérez, A. G., y Sanz, C. (2001). Effect of high-oxygen and high-carbon-dioxide atmospheres on strawberry flavor and other quality traits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2370-2375. DOI: 10.1021/jf001438l
- Perez, A.G., Sanz, C., Rios, J.J., Olias, R., Olias, J.M., 1999. Effects of ozone treatment on postharvest strawberries quality. *J. Agric. Food Chem.* 47, 1652–1656. DOI: 10.1021/jf980829l
- Pérez, A. G., Sanz, C., Olías, R., & Olías, J. M. (1997). Effect of methyl jasmonate on in vitro strawberry ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(10), 3733-3737. DOI: 10.1021/jf9703563
- Pirie, Andrew, and Michael G. Mullins. "Changes in anthocyanin and phenolics content of grapevine leaf and fruit tissues treated with sucrose, nitrate, and abscisic acid." *Plant physiology* 58.4 (1976): 468-472. DOI: 10.1104/pp.58.4.468

- Piña-Dumoulin, G., V. C. Saucedo, V. E. Ayala, and A. L. Muratalla. (2001). Atmósferas controladas para combatir daños postcosecha en zarzamora (*Rubus sp.*). *Rev. Fac. Agron.* 18: 87-105.
- Elizabeth J. Mitcham, Carlos H. Crisosto and Adel A. Kader. Postharvest *Technology Center*. (2020). *Página de internet*: [http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity\\_Resources/Fact\\_Sheets/Datadores/Fruit\\_English/?uid=12&ds=798](http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/Datadores/Fruit_English/?uid=12&ds=798). Consultada: 18 de enero 2021.
- PROY-NMX-FF-129-SCFI.(2019). Productos alimenticios no industrializados para consumo humano – Fruta fresca - Zarzamora (*Rubus spp.*) - Especificaciones y Métodos de Prueba.
- Ramos-Solano, B., Garcia-Villaraco, A., Gutierrez-Mañero, F. J., Lucas, J. A., Bonilla, A., y Garcia-Seco, D. (2014). Annual changes in bioactive contents and production in field-grown blackberry after inoculation with *Pseudomonas fluorescens*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 74, 1-8. DOI: 10.1016/j.plaphy.2013.10.029
- Redmond, J. C., Marois, J. J., and MacDonald, J. D. (1987). Biological control of *Botrytis cinerea* on Roses with epiphytic microorganisms. *Plant Dis.* 71:799-802. <https://doi.org/10.1094/PD-71-0799>
- Reina, L. D., Jin, Z. T., Zhang, Q. H., y Yousef, A. E. (1998). Inactivation of *Listeria monocytogenes* in milk by pulsed electric field. *Journal of food protection*, 61(9), 1203-1206. DOI: 10.4315/0362-028X-61.9.1203
- Rice, R.G., 2002. Century 21—pregnant with ozone. *Ozone Sci. Eng.* 24, 1–15. DOI: 10.1080/01919510208901590
- Rigby, Bruce, M. N. Dana, and L. K. Binning. "Ethephon Sprays and Cranberry Fruit Color1." *HortScience* 7.1 (1972): 82-83. DOI: 10.21273/HORTSCI.7.1.82
- Rodov, V., Vinokur, Y., y Horev, B. (2012). Brief postharvest exposure to pulsed light stimulates coloration and anthocyanin accumulation in fig fruit (*Ficus carica*

- L.). *Postharvest biology and technology*, 68, 43-46. DOI: doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.02.001
- Romanazzi, G., y Feliziani, E. (2014). *Botrytis cinerea* (gray mold). In *Postharvest decay* (pp. 131-146). Academic Press. DOI: 10.1016/B978-0-12-411552-1.00004-1
- Roth, L., Simonne, A., House, L., y Ahn, S. (2018). Microbiological analysis of fresh produce sold at Florida farmers' markets. *Food Control*, 92, 444-449. DOI: 10.1016/j.foodcont.2018.05.030
- Ruiz R, Hernández MJ, Ayala EV, Soto RL, Leyva MSG and Hernández RJ. (2014). Hongos asociados a cálices de Jamaica (*Hibiscus sabdarifa* L.) deshidratados y almacenados en Guerrero, México. *Revista Mexicana de fitopatología*. 33 (1): 12-3
- Rutz, J. K., Voss, G. B., & Zambiasi, R. C. (2012). Influence of the Degree of Maturation on the Bioactive Compounds in Blackberry (*Rubus* spp.) cv. Tupy. *Food and Nutrition Sciences*, 3(10), 1453-1460. DOI: 10.4236/fns.2012.310189
- Saavedra, G. M., Sanfuentes, E., Figueroa, P. M., & Figueroa, C. R. (2017). Independent preharvest applications of methyl jasmonate and chitosan elicit differential upregulation of defense-related genes with reduced incidence of gray mold decay during postharvest storage of *Fragaria chiloensis* fruit. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7), 1420. DOI: 10.3390/ijms18071420
- SADER, 2019. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER).(2019). Página de internet: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/mexico-es-el-numero-uno-gracias-a-la-zarzamora>. Consulta: 03 de febrero de 2021
- Saito, S., Margosan, D., Michailides, T. J., y Xiao, C. L. (2016). *Botrytis californica*, a new cryptic species in the *B. cinerea* species complex causing gray mold in

blueberries and table grapes. *Mycologia*, 108(2), 330-343. DOI: 10.3852/15-165

Saltos, A. (2001). Investigación y desarrollo de tecnologías aplicadas a la conservación de frutas-mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth). *UTA-BIDFUNDACYT, Ambato, Ecuador*, 74-94.

Sambrook J and Russel DW. (2001). Rapid isolation of yeast DNA. In: Sambrook J, Russell DW (eds) *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, New York, pp 631–632

Sanzani SM, Schena L, De Cicco V *et al* (2012). Early detection of *Botrytis cinerea* latent infections as a tool to improve postharvest quality of table grapes. *Postharvest Biol Tech* 68:64–7. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2012.02.003

Saran, S., Bisht, M. S., Singh, K., y Teotia, U. V. S. (2012). Comparing adhesion attributes of two isolates of *Lactobacillus acidophilus* for assessment of prebiotics, honey and inulin. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 2(1), 2250-3153.

Sayyari, M., Castillo, S., Valero, D., Díaz-Mula, H. M., y Serrano, M. (2011). Acetyl salicylic acid alleviates chilling injury and maintains nutritive and bioactive compounds and antioxidant activity during postharvest storage of pomegranates. *Postharvest Biology and Technology*, 60(2), 136-142. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2010.12.012

Scallan, E., Hoekstra, R. M., Angulo, F. J., Tauxe, R. V., Widdowson, M. A., Roy, S. L., ... y Griffin, P. M. (2011). Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *Emerging infectious diseases*, 17(1), 7. DOI: 10.3201/eid1701.P11101

Shen, Y., y Yang, H. (2017). Effect of preharvest chitosan-g-salicylic acid treatment on postharvest table grape quality, shelf life, and resistance to *Botrytis*

- cinerea*-induced spoilage. *Scientia Horticulturae*, 224, 367-373. DOI: 10.1016/j.scienta.2017.06.046
- SIAP, (2021). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.. Anuario Estadístico de la Producción agrícola. Página de internet <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/Consulta>: 03 de febrero de 2021.
- Singleton, V. L., y Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Soethe C., C. A. Steffens, M. S. de Martin, C. V. T. do Amarante, A. S. Heinzen, and A. A. Kretzschmar. (2019). Quality and functional properties of 'Tupy' blackberry stored in modified atmosphere conditions. *Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal*, 2019. 41 (1): (e-028). DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452019028>
- Sowley E.N.K., FM Dewey, MW Shaw (2010). Persistent, symptomless, systemic and seed-borne infection of lettuce by *Botrytis cinerea*. *Eur J Plant Pathol* 126:61–71. DOI: 10.1007/s10658-009-9524-1
- Staats, M., van Baarlen, P., y van Kan, J. A. (2005). Molecular phylogeny of the plant pathogenic genus *Botrytis* and the evolution of host specificity. *Molecular biology and Evolution*, 22(2), 333-346. DOI: 10.1093/molbev/msi020
- Stone, C. (2011). Fresh Strawberries from Washington County Farm Implicated in E. coli O157 Outbreak in NW Oregon. *FDA: Recalls, MW, y Safety Alerts (Ed.)*.
- Swaminathan, B., y Gerner-Smidt, P. (2007). The epidemiology of human listeriosis. *Microbes and infection*, 9(10), 1236-1243. DOI: 10.1016/j.micinf.2007.05.011

- Taghavi, T., Kim, C., y Rahemi, A. (2018). Role of Natural Volatiles and Essential Oils in Extending Shelf Life and Controlling Postharvest Microorganisms of Small Fruits. *Microorganisms*, 6(4), 104. DOI: 10.3390/microorganisms6040104
- Terrones-Salgado, J., Nieto-Angel, D., Nava-Díaz, C., Téliz-Ortiz, D., García-Velasco, R., Vallejo-Pérez, M. R., y Sánchez-García, P. (2019). *Botrytis cinerea* causing gray mold in blackberry fruit in Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 37(3), 365–382. DOI: 10.18781/r.mex.fit.1906-1
- Thole, V., Vain, P., Yang, R. Y., Almeida Barros da Silva, J., Enfissi, E. M., Nogueira, M., ... y Martin, C. (2020). Analysis of Tomato Post-Harvest Properties: Fruit Color, Shelf Life, and Fungal Susceptibility. *Current protocols in plant biology*, 5(2), e20108. DOI: 10.1002/cppb.20108
- Tournas, V. H., y Katsoudas, E. (2005). Mould and yeast flora in fresh berries, grapes and citrus fruits. *International journal of food microbiology*, 105(1), 11-17. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.05.002
- Tzortzakis, N., Singleton, I., y Barnes, J. (2007). Deployment of low-level ozone-enrichment for the preservation of chilled fresh produce. *Postharvest Biology and Technology*, 43(2), 261-270. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2006.09.005
- United States Department of Agriculture National Agricultural Statistics Service. (2017). United States Government Printing Office, Washington. V-1. [https://www.nass.usda.gov/Publications/Ag\\_Statistics/2017/index.php](https://www.nass.usda.gov/Publications/Ag_Statistics/2017/index.php)
- Urbasch I (1983). On the genesis and germination of chlamydospores of *Botrytis cinerea*. *J Phytopathol* 108:54–60
- USDA U.S. Department of Agriculture. (2016). United States standards for grades of dewberries and blackberries. 1–3. <https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/DewberriesBlackberriesS>

tandard.pdf Fecha de consulta: 03 febrero 2021

- Valero, M., Hernández-Herrero, L. A., Fernandez, P. S., y Salmeron, M. C. (2002). Characterization of *Bacillus cereus* isolates from fresh vegetables and refrigerated minimally processed foods by biochemical and physiological tests. *Food Microbiology*, 19(5), 491-499. DOI: 10.1006/fmic.2002.0507
- Valverde, J. M., Giménez, M. J., Guillén, F., Valero, D., Martínez-Romero, D., y Serrano, M. (2015). Methyl salicylate treatments of sweet cherry trees increase antioxidant systems in fruit at harvest and during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 109, 106-113. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2015.06.011
- Van de Velde, F., Esposito, D., Overall, J., Méndez-Galarraga, M. P., Grace, M., Élica Pirovani, M., y Lila, M. A. (2019) a. Changes in the bioactive properties of strawberries caused by the storage in oxygen-and carbon dioxide-enriched atmospheres. *Food science y nutrition*, 7(8), 2527-2536. DOI: 10.1002/fsn3.1099
- Van de Velde, F., Méndez-Galarraga, M. P., Grace, M. H., Fenoglio, C., Lila, M. A., y Pirovani, M. É. (2019) b. Changes due to high oxygen and high carbon dioxide atmospheres on the general quality and the polyphenolic profile of strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 148, 49-57. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2018.10.015
- Van de Velde, F., Méndez-Galarraga, M. P., y Pirovani, M. É. (2020) c. Effect of enriched O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> atmospheres on the overall quality and the bioactive potential of fresh blackberries. *Postharvest Biology and Technology*, 164, 111166. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2020.111166
- Veazie, P. P., & Collins, J. K. (2002). Quality of erect-type blackberry fruit after short intervals of controlled atmosphere storage. *Postharvest biology and Technology*, 25(2), 235-239. DOI: [10.1016/S0925-5214\(02\)00025-X](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(02)00025-X)

- Velázquez, M., Bautista, S., Hernández, A., Guerra, M., y Amora, E. (2008). Estrategias de Control de *Rhizopus stolonifer* Ehrenb. (Ex Fr.) Lind, Agente Causal de Pudriciones Postcosecha en Productos Agrícolas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 26(1), 49–55. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S018533092008000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018533092008000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Viret, O., Keller, M., Jaudzems, V. G., and Cole, F. M. (2004). *Botrytis cinerea* infection of grape flowers: Light and electron microscopical studies of infectionsites. *Phytopathology* 94:850857. DOI:10.1094/PHYTO.2004.94.8.850
- Viswanathan, P., y Kaur, R. (2001). Prevalence and growth of pathogens on salad vegetables, fruits and sprouts. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 203(3), 205-213. DOI: 10.1078/S1438-4639(04)70030-9
- Wang, H., Kou, X., Wu, C., Fan, G., & Li, T. (2020). Methyl jasmonate induces the resistance of postharvest blueberry to gray mold caused by *Botrytis cinerea*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(11), 4272-4281. DOI: 10.1002/jsfa.10469
- Wang, K., Liao, Y., Kan, J., Han, L., & Zheng, Y. (2015). Response of direct or priming defense against *Botrytis cinerea* to methyl jasmonate treatment at different concentrations in grape berries. *International journal of food microbiology*, 194, 32-39. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.11.006
- Wang, S. Y., & Zheng, W. (2005). Preharvest application of methyl jasmonate increases fruit quality and antioxidant capacity in raspberries. *International journal of food science & technology*, 40(2), 187-195. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2004.00930.x
- Wang, S. Y., Bowman, L., & Ding, M. (2008). Methyl jasmonate enhances antioxidant activity and flavonoid content in blackberries (*Rubus* sp.) and

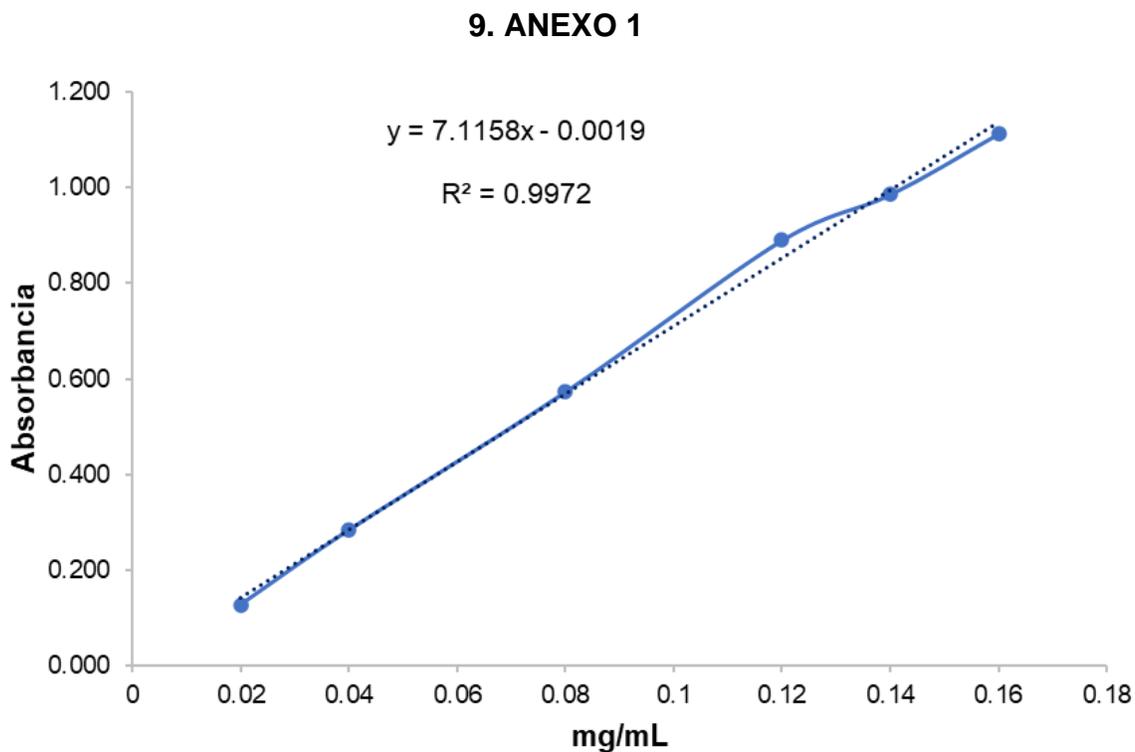
- promotes antiproliferation of human cancer cells. *Food Chemistry*, 107(3), 1261-1269. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.09.065
- Wang, S. Y., Shi, X. C., Liu, F. Q., & Laborda, P. (2021). Effects of exogenous methyl jasmonate on quality and preservation of postharvest fruits: A review. *Food Chemistry*, 353, 129482. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.129482
- West, J. S., Pearson, S., Hadley, P., Wheldon, A. E., Davis, F. J., Gilbert, A., y Henbest, R. G. C. (2000). Spectral filters for the control of *Botrytis cinerea*. *Annals of Applied Biology*, 136(2), 115-120. DOI:10.1111/j.1744-7348.2000.tb00015.x
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., y Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18(1), 315-322.
- Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., y Van Kan, J. A. L. (2007). *Botrytis cinerea*: The cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, 8(5), 561–580. DOI: 10.1111/j.1364-3703.2007.00417.x
- Wu, X., Wang, C., y Guo, Y. (2020). Effects of the high-pulsed electric field pretreatment on the mechanical properties of fruits and vegetables. *Journal of Food Engineering*, 274, 109837. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2019.109837
- Xiao, C.L., Chandler, C.K., Price, J.F., Duval, J.R., Mertely, J.C. and Legard, D.E. (2001). Comparison of epidemics of *Botrytis* fruit rot and powdery mildew of strawberry in large plastic tunnel and field production systems. *Plant Dis.* 85, 901–909. DOI: 10.1094/PDIS.2001.85.8.901
- Xu, X.-M., Harris, D. C., and Berrie, A. M. (2000). Modelling infection of strawberry flowers by *Botrytis cinerea* using field data. *Phytopathology* 90:1367-1374. DOI: 10.1094/PHYTO.2000.90.12.1367
- Yang, H., Hewes, D., Salaheen, S., Federman, C., yBiswas, D. (2014). Effects of blackberry juice on growth inhibition of foodborne pathogens and growth

- promotion of Lactobacillus. *Food Control*, 37, 15-20. DOI: 10.1016/j.foodcont.2013.08.042
- Yildiz, F., Yildiz, M., Delen, N., Coşkuntuna, A., Kinay, P., and Türküsay, H. (2007). The effects of biological and chemical treatment on gray mold disease in tomatoes grown under greenhouse conditions. *Turk. J. Agric. For.* 31:319-325.
- Zhang, F. S., Wang, X. Q., Ma, S. J., Cao, S. F., Li, N., Wang, X. X., & Zheng, Y. H. (2006, August). Effects of methyl jasmonate on postharvest decay in strawberry fruit and the possible mechanisms involved. In *IV International Conference on Managing Quality in Chains-The Integrated View on Fruits and Vegetables Quality* 712 (pp. 693-698). DOI: 10.17660/ActaHortic.2006.712.87
- Zhang, J., Yang, H., Yu, Q. Y., Wu, M. D., Yang, L., Zhuang, W. Y., Chen, W. D., y Li, G. Q. (2016). *Botrytis pyriformis* sp. nov., a novel and likely saprophytic species of *Botrytis*. *Mycologia*, 108(4), 682–696. DOI: 10.3852/15-340
- Zhang, Y., Wang, Y., Wang, H., Ma, X., y Zan, L. (2019). MicroRNA-224 impairs adipogenic differentiation of bovine preadipocytes by targeting LPL. *Molecular and cellular probes*, 44, 29-36. DOI: 10.1016/j.mcp.2019.01.005
- Zheng, G., Milledge, T., George, E. O., y Narasimhan, G. (2006, May). Pooling evidence to identify cell cycle–regulated genes. In *International Conference on Computational Science* (pp. 694-701). Springer, Berlin, Heidelberg. DOI: 10.1007/11758525\_94
- Zhang, B.Y., Samapundo, S., Pothakos, V., Sürengil, G., Devlieghere, F., (2013). Effect of high oxygen and high carbon dioxide atmosphere packaging on the microbial spoilage and shelf-life of fresh-cut honeydew melon. *Int. J. Food Microbiol.* 166 (3), 378–390. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.08.002

Zhou, Y. J., Zhang, J., Wang, X. D., Yang, L., Jiang, D. H., Li, G. Q., ... y Zhuang, W. Y. (2014). Morphological and phylogenetic identification of *Botrytis sinoviticola*, a novel cryptic species causing gray mold disease of table grapes (*Vitis vinifera*) in China. *Mycologia*, 106(1), 43-56. DOI: 10.3852/13-032

Zhu, Q., Gooneratne, R., y Hussain, M. A. (2017). *Listeria monocytogenes* in fresh produce: outbreaks, prevalence and contamination levels. *Foods*, 6(3), 21. DOI: 10.3390/foods6030021

Zia-Ul-Haq, M., Riaz, M., De Feo, V., Jaafar, H. Z., y Moga, M. (2014). *Rubus fruticosus* L.: constituents, biological activities and health related uses. *Molecules*, 19(8), 10998-11029. DOI: 10.3390/molecules190810998



**Figura 35.** Curva estándar de ácido gálico para la determinación de fenoles.