

Portada Externa de Tesis

Manejo de la vida de anaquel mediante elicitación con quitosano y ácido salicílico en zarzamora (*Rubus sp.*)

2020



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería

Manejo de la vida de anaquel mediante elicitación con quitosano y ácido salicílico en zarzamora (*Rubus sp.*)

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Maestro Maestro en Ciencias de Ingeniería de Biosistemas

Presenta

Joel Ernesto Martínez Camacho

Santiago de Querétaro, Querétaro
Mayo 2020



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería
División de Investigación y Posgrado

Manejo de la vida de anaquel mediante elicitación con quitosano y ácido salicílico en zarzamora (*Rubus sp.*)

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Ciencias en Ingeniería en Biosistemas

Presenta:

Joel Ernesto Martínez Camacho

Dirigida por:

Dr. Irineo Torres Pacheco

SINODALES

Dr. Irineo Torres Pacheco
Presidente

Firma

Dr. Ramón Gerardo Guevara González
Secretario

Firma

Dr. Enrique Rico García
Vocal

Firma

Dra. Rosalía Virginia Ocampo Velázquez
Suplente

Firma

Dra. Ana Angélica Feregrino Pérez
Suplente

Firma

Dr. Manuel Toledano Ayala
Director de la Facultad

Dr. Juan Carlos Antonio Jáuregui Correa
Jefe de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Mayo 2020

*Dedicado a
mi familia, amigos, maestros y compañeros.*

Dirección General de Bibliotecas UAQ

Agradecimientos

Mi más sincero agradecimiento al Dr. Irineo, Dr. Ramón, Dr. Enrique e integrantes del cuerpo académico de Biosistemas por su guía y valiosas aportaciones. Al Dr. Juan Fernando coordinador del programa, por la confianza depositada en mí. Al Sr. Resti, Alex y su equipo por hacer posible esta investigación. Al personal docente, administrativo y operativo del Campus Amazcala por las facilidades otorgadas. A mis compañeras Alondra, Mariela y Noelia por compartir este reto conmigo. A mis padres, Victoria y Ernesto, a Miguel y a Eva por su apoyo incondicional. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y el programa FOPER de la Universidad Autónoma de Querétaro por el financiamiento para la exitosa realización de este trabajo.

Dirección General de Bibliotecas UAMQ

Resumen

La zarzamora (*Rubus sp.*) ha sido identificada como una fuente de numerosos compuestos antioxidantes que han sido relacionados con beneficios a la salud humana. Dichos compuestos incluyen flavonoides, estilbenos, taninos y ácidos fenólicos, también llamados metabolitos secundarios. El uso de elicitores es una técnica ampliamente utilizada para generar señales de respuesta en las plantas a nivel morfológico y fisiológico, incluyendo la activación de enzimas involucradas en procesos de maduración. La actividad de dichas enzimas no solo influye en la calidad y valor nutricional de los frutos sino que también tienen un rol importante en los mecanismos de resistencia de las plantas que podrían incrementar la vida de anaquel de los frutos y fortalecer sus propiedades biomecánicas. La zarzamora es frágil, susceptible al daño mecánico, el fenómeno de reversión y tiene una vida de anaquel corta. Diversos métodos han sido reportados para incrementar su vida de anaquel incluyendo el uso de cubiertas, empaques modificados, almacenamiento en atmósferas modificadas, sanitización e irradiación. Sin embargo, la mayoría de estos métodos no han sido probados bajo condiciones comerciales de producción además de requerir un acondicionamiento previo de las muestras, no se encuentran disponibles fácilmente o no son completamente compatibles con el modelo de producción actual de la zarzamora. La mayoría de ellos requieren un manejo adicional de la fruta lo que puede ser perjudicial para su calidad y están limitados en su uso por las frágiles características biomecánicas del fruto de zarzamora. Diversos estudios han reportado que el quitosano y el ácido salicílico pueden funcionar de manera efectiva como elicitores. Mediante el uso de ácido salicílico y quitosano el objetivo de este trabajo se propone un método complementario, accesible, compatible y de manejo adicional mínimo que mejore la vida de anaquel del fruto de zarzamora. Los resultados indican cambios en la actividad de enzimas relacionadas a procesos de maduración, senescencia y degradación de pared celular. Los tratamientos mostraron alargar la vida de anaquel de la zarzamora sin afectar sus características organolépticas.

Palabras clave: *biotecnología, actividad enzimática, fisiología vegetal.*

Abstract

Blackberry (*Rubus sp.*) has been identified as a source of numerous antioxidant compounds, which have been related to benefits for human health. The variety of antioxidant phenolics includes flavonoids, stilbenes, tannins, and phenolic acids, also referred as secondary metabolites. The use of elicitors is a commonly used technique in a wide range of applications to trigger signaling for plants to response in a morphological or physiological level including the activation of enzymes related to ripening and senescence processes. Extensive study has shown that the activity of such enzymes not only affect the quality and nutritional value of the fruit but also have an important role in plant resistance mechanisms, which could lead to an increase in shelf life due to the reduction of post harvest diseases and enhancement of biomechanical properties of fruits. Blackberry is fragile, susceptible to mechanical damage, red drupelet reversion and has short shelf life. There are numerous studies that report improvement in blackberry shelf life including coatings, modified packaging, controlled atmosphere storage, sanitation and irradiation. However, most of the research regarding this topic has not been developed under commercial production conditions and preconditioning of the samples is required, they are not easily available or they are not fully suitable or compatible with the current blackberry production model. Most of these methods involve extra handling which can be detrimental to fruit quality and are limited by blackberry fragile bio-mechanical properties. Several studies in other commodities have reported that chitosan and salicylic acid can be effective as elicitors, therefore application of this compounds could positively affect properties to raise fruit quality. By testing the effect of salicylic acid and chitosan treatments the aim of this study is to propose a complementary, inexpensive, minimal handling method that could lead to the improvement of blackberry shelf life. The results showed changes in enzyme activity related to ripening, senescence and cell wall degradation processes. The treatments improved blackberry shelf life without having negative impact in its organoleptic properties.

Keywords: *biotechnology, enzymatic activity, plant physiology.*

Índice general

Portada externa	i
Portada interna	ii
Agradecimientos	iv
Resumen	v
Abstract	vi
Índice General	viii
Índice de figuras	ix
Índice de tablas	x
1 Introducción	1
1.1 Justificación	2
1.2 Descripción del problema	2
2 Antecedentes	4
2.1 Zarzamora	4
2.2 Monitoreo tecnológico	5
2.2.1 Métodos actuales para extender la vida de anaquel	5
2.2.2 Productos comercialmente disponibles	7
2.2.3 Búsqueda de patentes	7
2.3 Factores que afectan la calidad y vida de anaquel de la zarzamora	8
2.3.1 Maduración y senescencia	9
2.3.2 Ataque de patógenos	10
2.3.3 Actividad Enzimática	11
Superóxido dismutasa y Catalasa	11
Fenilalanina amonio liasa	11
Poligalacturonasa	11
2.4 Elicitores y sus efectos en las plantas	12
2.4.1 Ácido salicílico	13
2.4.2 Quitosano	14
3 Hipótesis	17
4 Objetivos	18
4.1 Objetivo General	18
4.2 Objetivos Específicos	18

5	Metodología	19
5.1	Descripción del área de estudio	19
5.2	Material Vegetal	19
5.3	Tratamientos pre-cosecha	20
5.3.1	Determinación de firmeza	20
5.3.2	Índice de comercialización	21
5.3.3	Acidez titulable	22
5.3.4	Sólidos solubles totales	23
5.3.5	Índice de maduración	23
5.3.6	Actividad enzimática	23
5.4	Tratamientos pos-cosecha	25
5.4.1	Índice de comercialización	25
5.4.2	Acidez titulable	26
5.4.3	Sólidos solubles totales	26
5.4.4	Índice de maduración	26
5.4.5	Actividad enzimática	26
5.5	Análisis de datos	27
6	Resultados y discusión	28
6.1	Tratamientos pre-cosecha	28
6.1.1	Determinación de firmeza	28
6.1.2	Índice de comercialización	29
6.1.3	Variables de calidad del fruto	32
6.1.4	Actividad enzimática	32
6.2	Tratamientos pos-cosecha	34
6.2.1	Índice de comercialización	34
6.2.2	Variables de calidad del fruto	37
6.2.3	Actividad enzimática	37
7	Conclusión	39
8	Referencias	40
9	Anexos	53
9.1	Buenas prácticas de laboratorio	53
9.2	Perspectivas	54
9.3	Productos generados durante la investigación	55
9.4	Conferencias y presentaciones	69
9.5	Costos de implementación	73
9.6	Votos aprobatorios	74

Índice de figuras

2.1	Interacción entre elicitores y células vegetales. Adaptación: (Dixon and Paiva, 1995; Baenas et al., 2014; Cocuron et al., 2018)	12
2.2	Efecto del ácido salicílico en la resistencia en plantas. Modificado: (Asghari and Aghdam, 2010)	13
2.3	Respuestas activadas por el quitosano en una célula vegetal. Modificado: (Pichyangkura and Chadchawan, 2015)	15
5.1	Localización del lote experimental.	19
5.2	Distribución de tratamientos.	20
5.3	Determinación de firmeza.	21
5.4	Montaje experimento para determinación de índice de comercialización.	22
5.5	Determinación de acidez titulable.	22
5.6	Determinación de sólidos solubles totales.	23
5.7	Determinación de actividad enzimática.	25
6.1	Índice de comercialización grupo A después de 144 horas.	29
6.2	Índice de comercialización grupo B después de 144 horas.	30
6.3	Fotografías representativas tratamientos pre-cosecha.	31
6.4	Actividad enzimática relativa poligalacturonasa.	33
6.5	Índice de comercialización después de 96 horas.	35
6.6	Fotografías representativas tratamientos pos-cosecha.	36

Índice de tablas

2.1	Compuestos bioactivos en el fruto de zarzamora.	5
2.2	Métodos para extender la vida de anaquel en berries.	6
2.3	Ácido salicílico para mejorar la calidad de frutos.	14
2.4	Quitosano para mejorar la calidad de frutos.	16
6.1	Firmeza del fruto de zarzamora en diferentes etapas de maduración. . .	28
6.2	Porcentaje de factores de deterioro presentes después de 144 horas. . .	30
6.3	VARIABLES DE CALIDAD DEL FRUTO.	32
6.4	Actividad enzimática SOD, CAT y PAL.	33
6.5	Actividad enzimática poligalaturonasa.	34
6.6	Porcentaje de factores de deterioro presentes después de 96 horas. . .	35
6.7	VARIABLES DE CALIDAD DEL FRUTO TRATAMIENTOS POS-COSECHA.	37
6.8	Actividad enzimática tratamientos pos-cosecha.	37
9.1	Costos de operación para una hectárea de zarzamora.	73
9.2	Costos de aplicación por evento de tratamientos para una hectárea de zarzamora.	73

1 Introducción

La zarzamora (*Rubus sp.*) se encuentra entre las frutas con mayor contenido de compuestos fenólicos (Złotek et al., 2014). Poseen efectos antivirales, antiinflamatorios, cardioprotectores y antidiabéticos (Padmanabhan et al., 2016; Wang et al., 2018b). Sus efectos en la salud han sido atribuidos principalmente a su capacidad antioxidante y es de gran interés aumentar el contenido de dichos compuestos en los alimentos (Zhao et al., 2005; Paredes-López et al., 2010). Las zarzamoras tienen una vida de anaquel corta y son susceptibles al daño mecánico. Al ser consideradas frutos no climatéricos, no continúan el proceso de maduración una vez separados de la planta, por lo tanto deben ser cosechadas en su punto de madurez o muy cercano a éste (Pech et al., 2012; Benichou et al., 2018). Tienen altas tasas de respiración lo que reduce su tiempo de vida útil (De la Vega et al., 2017).

La vida de anaquel o vida útil se define como el periodo durante el cual un alimento mantendrá sus características sensoriales, químicas, físicas, microbiológicas y funcionales deseadas (Sousa-Gallagher et al., 2016a). En el instante en que el alimento se considera como no apto para el consumo, el producto ha llegado al fin de su vida útil (Singh and Anderson, 2004). Muchos de los problemas de deterioro están relacionados con cambios químicos, bioquímicos y físicos. Dichas reacciones influyen en la textura, sabor, cambio de color y ablandamiento de tejidos en frutas y vegetales (Singh and Anderson, 2004). La expresión asociada a estos cambios fisiológicos está regulada por estímulos externos e internos, incluyendo temperatura, iluminación, estatus nutricional, disponibilidad de agua, así como reguladores del crecimiento vegetal (Manning, 1998; Chávez-Bárceñas et al., 2012). Factores como la temperatura de almacenamiento y el ataque de organismos de deterioro influyen en la vida de anaquel de los frutos (Benichou et al., 2018).

La elicitación es una estrategia para incrementar la concentración de compuestos bioactivos en plantas además de inducir resistencia a factores abióticos de estrés, influye en la calidad de los frutos, aumentando la producción de compuestos fitoquímicos (Martínez-Ballesta et al., 2008). La zarzamora producida en México es comercializada principalmente como fruto en fresco y su mayor demanda se encuentra en el mercado internacional, por lo que un factor limitante de su comercialización es su corta vida de anaquel (Piña-Dumoulin et al., 2001). Los métodos más utilizados en la actualidad para prolongar la vida de anaquel en zarzamora son: almacenamiento en frío, atmósferas modificada y cubiertas comestibles (Benichou et al., 2018).

1.1 Justificación

La demanda de zarzamora va en aumento, debido al interés de los consumidores en dietas más saludables y su variedad de compuestos fenólicos las hacen componentes ideales de dichas dietas (Szajdek and Borowska, 2008; Oszmiański et al., 2015). La producción de zarzamora en México ha cobrado gran importancia en los últimos años, reportando una producción nacional de 270,421.73 toneladas para el 2017 (SAGARPA, 2017). Las berries se ubican como uno de los productos con mayor potencial en el sector agrícola mexicano. Con un aumento en el volumen de producción de 93.4 % durante el periodo 2012-2017, y cuentan con una demanda creciente. En el 2030, se estima un aumento en la demanda mundial de 1.4 a 2.2 millones de toneladas (SAGARPA, 2016). El mercado de exportación más importante para la zarzamora mexicana es Estados Unidos sin embargo, su valor por unidad es hasta 3 veces menor, \$3,800 USD por tonelada, que en otros mercados emergentes, por ejemplo Rusia, \$11,700 USD por tonelada, o Emiratos Árabes, \$11,500 USD por tonelada. En donde además se puede observar un incremento en los valores exportados desde el 2013 de 89 % y 101 % respectivamente (UN COMTRADE, 2018). El precio de venta al público en supermercados de un chamshell de 125 g de zarzamora fresca oscila entre ₱290 y ₱590 rublos rusos, \$83 y \$170 pesos mexicanos. En contraste, en México oscila entre los \$45 y \$55 en la misma presentación. El precio de venta al público en supermercados de un chamshell de 125 g de zarzamora orgánica fresca certificada puede llegar a los ₱1,160 rublos rusos o \$330 pesos mexicanos. Los mercados que representan mayor valor se encuentran principalmente en Europa y Asia, con precios por tonelada, desde \$11,000 hasta \$21,000 USD. El traslado promedio de alimentos vía aérea hacia Europa es de 18-28 horas desde México. El tiempo de viaje total desde el lugar de cosecha hasta el punto de venta puede oscilar entre 3-4 días. Por lo que se requiere aumentar la vida de anaquel del fruto para alcanzar y comercializar eficientemente la zarzamora en mercados emergentes de alto valor.

1.2 Descripción del problema

El fruto de la zarzamora es altamente perecedero de ahí la importancia de cortarlo en el momento oportuno. Para el mercado en fresco, se busca un color negro brillante, con drupas firmes separadas y de fácil desprendimiento de la planta. Los cuidados deben ser máximos después de la cosecha, durante el transporte y almacenamiento (Chávez-Bárceñas et al., 2012). Los métodos utilizados en la actualidad para prolongar la vida de anaquel en zarzamora son: almacenamiento en frío, atmósferas modificada y cubiertas comestibles (Benichou et al., 2018). La vida de anaquel de la zarzamora puede llegar hasta los 14 días en almacenamiento en frío a 0°C con una humedad relativa mayor a 90 % (Perkins-Veazie, 2016). Sin embargo, durante el transporte aéreo es complicado mantener estas condiciones ya que los aviones no cuentan con cámaras frigoríficas. Existen reportes acerca de la temperatura de la carga transportada por vía aérea desde Europa a Estados Unidos tuvo una variación en el intervalo de -1°C a 26°C, a pesar de las instrucciones de mantenerla entre 2°C y 8°C (Heap, 2006). La zarzamora almacenada en condiciones de atmósfera modificada, entre 10-15 % de CO₂, tuvo una disminución de 15 % en la

putrición a comparación de un control, aunque es una opción viable para alargar la vida de anaquel de la zarzamora, no sustituye al almacenamiento en frío y deben considerarse los costos extra asociados a este manejo (Veazie and Collins, 2002; Perkins-Veazie, 2017). Este tipo de condiciones de transporte con atmósferas modificadas solo están disponibles para la transportación marítima y terrestre. El uso de cubiertas comestibles biodegradables de almidón ha mostrado resultados positivos en el retardo de los procesos de maduración (Pérez-Gallardo et al., 2015). El uso de recubrimientos puede crear un efecto similar al de una atmósfera modificada, con O_2 reducido y niveles altos de CO_2 (Baldwin, 2016). Sin embargo, el recubrimiento puede inducir respiración anaerobia así como la síntesis de etanol y acetaldehído afectando el sabor del producto (Baldwin et al., 1999).

El tiempo de viaje desde el lugar de producción hasta el destino final, sumando la vida útil mínima requerida por los comercializadores de frutas frescas en los mercados de interés, es de al menos 14 días, lo cual se encuentra en el extremo superior reportado para la vida de anaquel en zarzamora almacenada en condiciones ideales, esto es una limitante importante ya que se requieren más días de vida útil para su comercialización. Dentro de la cadena logística de distribución la zarzamora está sujeta a condiciones de manejo, almacenamiento y traslado que, al no ser ideales, disminuyen su vida de anaquel y pueden alterar la calidad final producto, como consecuencia acentúan las complicaciones para su comercialización en fresco. Investigaciones han reportado que la aplicación de elicitores como el quitosano (Barikloo and Ahmadi, 2018) y el ácido salicílico (Shen and Yang, 2017) en periodos pre y pos-cosecha inciden sobre rutas metabólicas, los cuáles están relacionados a propiedades del fruto que podrían alargar de su vida de anaquel. Es por ello que se pretende dilucidar si la elicitación tiene efecto sobre la zarzamora y su vida de anaquel.

2 Antecedentes

2.1 Zarzamora

La zarzamora pertenece al género *Rubus*, miembro de la familia Rosaceae (Padmanabhan et al., 2016). Desde un punto de vista hortícola, cada fruto de zarzamora es un agregado de drupas (Hall and Funt, 2017). La zarzamora es una buena fuente de vitaminas, minerales y otros compuestos bioactivos. Las zarzamoras son ricas en polifenoles como antocianinas, flavonoides, ácidos fenólicos y ácido ascórbico (Padmanabhan et al., 2016). La planta de zarzamora es un arbusto espinoso que alcanza una altura de 150 a 200 cm y una anchura entre 100 Y 150 cm, el follaje tiende a ser de color verde claro y se torna verde oscuro al madurar la hoja. Las plantas de zarzamora en áreas templadas y subtropicales tiran las hojas y durante el invierno las cañas permanecen en reposo completamente defoliadas. Al comienzo de la primavera inicia la brotación y se cubren nuevamente de follaje (Pérez-Barraza and Vázquez-Valdivia, 2004). Botánicamente, las berries o frutillas se definen como frutos carnosos con un endocarpio cartilaginoso lleno de semillas. Las berries han sido valiosas como fuente de alimento para los humanos desde antes del inicio de la agricultura (Pareek et al., 2015). Las berries comprenden especies de diferentes género como *Aronia*, *Fragaria*, *Rubus*, *Ribes*, *Vaccinium*, entre otros (Paredes-López et al., 2010). Las zarzamoras son ricas en compuestos fitoquímicos y antioxidantes de diversa naturaleza. Los compuestos bioactivos presentes en la zarzamora, también llamados metabolitos secundarios, forman parte de mecanismos de adaptación y defensa (Jimenez-Garcia et al., 2013). Los ácidos fenólicos, compuestos derivados del ácido cinámico y benzoico normalmente se encuentran esterificados con otras moléculas como carbohidratos y ácidos orgánicos (Padmanabhan et al., 2016). Las antocianinas son pigmentos que otorgan la coloración característica a la zarzamora y se localizan principalmente en la piel del fruto (Paredes-López et al., 2010). Dichos pigmentos son principalmente antocianinas con bases de cianidina y han sido relacionadas a inhibir la proliferación de células de carcinoma en pulmones y migración de células cancerígenas, además de tener efectos neutroprotectores en células extracraniales (Ding et al., 2006; Tavares et al., 2013). Se ha reportado que los flavonoides sintetizados a partir de derivados del ácido acético poseen efectos anti-virales, antiinflamatorios, cardioprotectores, anti-diabéticos, entre otros (Wang et al., 2018b). Los estilbenos como el resveratrol y sus análogos tienen propiedades biológicas como actividad anti-inflamatoria, antienvjecimiento, anti-alérgica y anntimutagénica (Paredes-López et al., 2010).

Tabla 2.1 Compuestos bioactivos en el fruto de zarzamora.

Compuesto	Contenido / 100 g Peso Fresco	Referencia
Fenoles totales	486.53 mg de ácido gálico	(Sellappan et al., 2002)
Antocianinas	139.8 mg de cianidina-3-glucósido	(Pantelidis et al., 2007)
Flavonoides	98 mg catequina	(Ramos-Solano et al., 2015)
Ácido ascórbico	15.23 mg	(Pantelidis et al., 2007)

El ácido ascórbico es una vitamina soluble en agua que ha reportado tener efectos en la inhibición de procesos oxidativos, neutralizar radicales libres y otros compuestos cancerogénicos y mutagénicos. El ácido ascórbico también forma parte de la síntesis de colágeno, neurotransmisores y hormonas, mejora la absorción de hierro y la resistencia inmunológica (Retsky and Frei, 1995; Iqbal et al., 2004; Szajdek and Borowska, 2008). En la (Tabla 2.1) se presentan algunos de los principales compuestos bioactivos presentes en el fruto de zarzamora.

2.2 Monitoreo tecnológico

2.2.1 Métodos actuales para extender la vida de anaquel

La zarzamora al ser un fruto altamente perecedero requiere cuidados durante su transporte y almacenamiento (Chávez-Bárceñas et al., 2012). La zarzamora se caracteriza además por una vida de anaquel muy corta y su susceptibilidad al daño mecánico. Uno de los principales factores que reduce su vida de anaquel es su alta tasa de respiración (De la Vega et al., 2017). El almacenamiento a baja temperatura es la tecnología más utilizada para retrasar el deterioro de frutas y vegetales (Hiwasa-Tanase et al., 2014). El almacenamiento en pos-cosecha de frutos a una temperatura apropiada ha sido la principal estrategia para mantener su calidad y extender su vida útil como consecuencia de disminuir la tasa de respiración, pérdida de agua y crecimiento de microorganismos (Wills et al., 1999). El almacenamiento a baja temperatura tiene el beneficio adicional de proteger cualidades como la textura, aroma y sabor (Paull, 1999). Durante la transportación aérea, se estima que solo la mitad del tiempo de tránsito corresponde al vuelo, el resto a maniobras de carga, descarga y almacenamiento hacia el aeropuerto o en éste (Pelletier et al., 2011). Las técnicas de enfriamiento empleadas en el almacenamiento de zarzamora, ayudan a preservar la calidad del producto restringiendo la respiración e inhibiendo el crecimiento de microorganismos de deterioro (Bhat, 2012). La exposición de las zarzamoras a temperaturas mayores a 5°C acorta su vida de anaquel rápidamente debido a la pérdida de peso y a la respiración (Perkins-Veazie et al., 1999). La temperatura recomendada de almacenamiento para zarzamora es de 0°-5°C con una humedad relativa entre 90-98%. Actualmente las estrategias más empleadas para incrementar la vida de anaquel de la zarzamora son el almacenamiento en frío, almacenamiento en atmósferas modificadas y el uso cubiertas comestibles (Benichou et al., 2018). Diversos métodos (Tabla 2.2) han sido empleados para mantener e incluso incrementar la calidad de la zarzamora y pueden ser empleados como complemento al almacenamiento en frío.

Tabla 2.2 Métodos para extender la vida de anaquel en berries.

Método	Resultados reportados	Comentarios	Referencias
Refrigeración	Menor tasa de respiración, deterioro, ablandamiento y goteo.	No disponible para toda la cadena logística de distribución (transporte aéreo). Costos extra.	(Kim et al., 2015) (Perkins-Veazie, 2017)
Cubiertas comestibles	Aumento en la vida de anaquel. Retraso en la senescencia del fruto asociado a cambios de color, cambio de sabor y deshidratación.	Algunos resultados adversos se han reportado respecto a las propiedades organolépticas del fruto.	(Baldwin, 2016) (Pérez-Gallardo et al., 2015) (Eshghi et al., 2014)
Atmósferas modificadas	Reducción del deterioro de la fruta. Actividad fungostática en atmósferas con alto contenido de CO ₂ .	No disponible para toda la cadena logística de distribución. Costo extra.	(Perkins-Veazie, 2017) (Veazie and Collins, 2002) (Yahia et al., 2019)
Irradiación	Reducción de la pudrición. Inactivación de microorganismos patógenos.	Resultados no definitivos. Algunos efectos adversos en la calidad del fruto.	(Butot et al., 2018) (Perkins-Veazie et al., 2008) (Bule et al., 2010) (Eichholz et al., 2011)
Sanitización	Inhibición en la respiración, reducción de la pérdida de peso e incidencia de deterioro.	Puede provocar daño mecánico. Aumento de humedad en la fruta durante el almacenamiento.	(Horvitz, 2017) (Perkins-Veazie, 2017) (Xu et al., 2016)
Empaques modificados	Aumento en la vida de anaquel.	Condiciones de almacenamiento inconsistentes. Puede afectar las propiedades del fruto (sabor).	(Almenar et al., 2008) (Junqueira-Gonçalves et al., 2016)

Las zarzamoras son susceptibles al fenómeno de reversión, que se define como el cambio de color o la aparición de manchas rojas después de la cosecha. La ruptura de paredes celulares o vacuolas dentro de las drupas permiten la exposición de los pigmentos al medio ambiente generando un cambio de color (Clark et al., 2007). Este cambio de color es una de las principales razón de rechazo durante la comercialización. La vibración durante el transporte o almacenamiento y la exposición a vibraciones acústicas podría influir sobre las propiedades de la pared celular, membrana citoplasmática y tener un efecto en el fenómeno de reversión (Pérez-Pérez et al., 2016; Fernandez-Jaramillo et al., 2018). Se han reportado cambios en la estructura entre células sanas y células afectadas por reversión (Edgley et al., 2019). El empaque juega un papel relevante en la preservación de la calidad de los alimentos (Sousa-Gallagher et al., 2016b). El propósito del empaque es conservar la calidad y seguridad de los alimentos que contienen desde su elaboración hasta que es consumido, así como proteger el producto de daños físicos, químicos o biológicos (Cutter, 2006). El embalaje debe proteger el contenido de los efectos ambientales externos como agua, vapor de agua, gases, olores, microorganismos, luz, polvo, vibraciones, compresión y en general proteger el ambiente del producto. Los materiales de emba-

lajes más utilizados para zarzamora son los elaborados a partir de polietileno, que han sido usados en la industria alimenticia por más de 50 años. Estos materiales son baratos, versátiles y flexibles (Tice, 2003). Sin embargo, adicionalmente a implicaciones ambientales, el embalaje de alimentos ha sido afectado por cambios en la distribución, incluyendo la globalización de las cadenas de suministro, las tendencias de los consumidores hacia alimentos más frescos, así como el deseo de alimentos más seguros y de mejor calidad (Lopez-Rubio et al., 2004). Las zarzamoras generalmente son empacadas directamente en campo (Benichou et al., 2018). El empaque más común para zarzamora es el “clamshell” con ventilación de 6oz (170 g), que se agrupa en 12 unidades por caja (Perkins-Veazie, 2016).

2.2.2 Productos comercialmente disponibles

Se realizó una búsqueda de productos comercialmente disponibles a través del diccionario de especialidades agroquímicas (DEAQ, 2018) y el catálogo de productos certificados por el Organic Materials Review Institute (OMRI, 2019). En la actualidad existen productos elaborados a base de quitosano para uso agrícola. El quitosano en México se comercializa principalmente en forma de materia prima. Existe disponibles en el país productos elaborados a base de quitina que cuentan con registro OMRI y COFEPRIS para su comercialización, la mayoría de ellos son propiedad de empresas estadounidenses. Algunos ejemplos son Agrinos 5-0-0, Uplift 5-0-0, HYTC Bioquitina, Natural Force y BioRend. Así mismo existen productos de empresas mexicanas como FON BIOREPEL, Pro Quitina, Pranaterra, Terra Healer y Nematrol Plus. El ácido salicílico se utiliza como ingrediente adicionado en algunas formulaciones fertilizantes, principalmente en mezclas a base de fosfitos, no se encuentra disponible como producto de aplicación agrícola individualmente. Existe un producto de origen chileno de nombre Actigen que es elaborado a base de una mezcla de quitosano y ácido salicílico, se encuentra disponible en Chile y Colombia.

2.2.3 Búsqueda de patentes

Se realizó una búsqueda de patentes relacionadas al uso de quitosano y ácido salicílico en la agricultura con el objetivo de identificar probables similitudes con los métodos propuestos. La patente con número de publicación internacional WO 2012/142720 A2 (Villanueva-Fernández, 2011), se refiere a la formulación y procedimiento para activar los genes que regulan las interacciones naturales de los vegetales y su medio ambiente utilizando como principales ingredientes poli-A-D-glucosamina y ácidos orgánicos, sin embargo solo contempla la inmersión directa de raíces y semillas para mejorar el porcentaje de germinación, peso seco y peso fresco en planta. La patente con número de publicación PT 2320730 E (VALAGRO, 2009), presenta una invención referente a una composición agroquímica para proteger los cultivos contra ataques y estimular la resistencia contra agentes fitopatógenos, así como para mejorar la tolerancia a estrés biótico y abiótico comprendido mediante una mezcla de quitosano parcialmente despolimerizado con un quelato de cobre bivalente. En la patente con número de publicación US 2009/0312279 A1 (Mookerjee et al., 2009), se describe la preparación de varios compuestos con propiedades antibacteriales, dentro de los ingredientes se incluye en algunas mezclas el quitosano, sin embargo se

requieren al menos tres componentes entre los cuales se mencionan derivados de di-benzofuran considerando como potencialmente cancerígeno. La patente con número de publicación internacional WO 2017/209593 A1 (Gallegos-Acuña, 2017) se refiere a un bioregenerador de suelo el cual utiliza una composición a base de zeolita como un agente portador y catalizador para lograr un efecto de remineralización de suelo y a su vez por medio del uso de la nanotecnología que incluye como elemento adicional el quitosano en una concentración al 1%. La patente con número de publicación internacional W0 2018/042311 A1 (Shendye, 2009) hace mención al uso de quitosano mezclado con ácido salicílico en solución como activador de crecimiento vegetal e inductor de resistencia a enfermedades, sin embargo la mayoría de las pruebas de efectividad se realizaron in-vitro. La patente con número de publicación US 2005/0239657 A1 (Sakurai et al., 2005) presenta una invención relacionada a la protección de las plantas contra enfermedades utilizando una composición de quitosano como ingrediente principal así como una mezcla de ácidos orgánicos entre los cuáles se encuentra el ácido salicílico, las pruebas se llevaron a cabo en plántulas de pepino y plantas de coliflor y arroz. La patente con número de publicación US 6,413,910 B1 (Vasiljevich et al., 2002) indica que una mezcla de quitosano, ácido láctico, succínico, glutámico y un agente activador fitohormonal mejoran la resistencia de las plantas a enfermedades.

2.3 Factores que afectan la calidad y vida de anaquel de la zarzamora

La calidad de los frutos constituye una composición dinámica de sus propiedades fisicoquímicas y la percepción del consumidor. La síntesis y acumulación de metabolitos depende principalmente del material genético y estado de desarrollo del fruto (Kyriacou and Roupael, 2018). La aceptación de los frutos depende de el color, apariencia, sabor, textura y características nutricionales (Benichou et al., 2018). La genética es un factor clave y determinante en la variación fisicoquímica, organoléptica y en la calidad funcional de los frutos y vegetales, incluyendo los compuestos bioactivos con actividad antioxidante así como el color, forma, peso y composición química (Kyriacou and Roupael, 2018; Tyagi et al., 2017). La ingeniería genética en su mayoría se ha enfocado en mejorar la vida de anaquel y apariencia general de las frutas, centrándose en los genes que controlan la firmeza y la tasa de maduración (Masoodi et al., 2018). La maduración es un fenómeno, altamente coordinado, genéticamente programado e irreversible (Seymour et al., 2002). La temperatura tiene una influencia significativa en la tasa de respiración de productos cosechados, tiene su mayor impacto en el deterioro durante el periodo de pos-cosecha. La exposición a elevadas temperaturas pueden llevar a un deterioro de la calidad nutrimental y reducción de la vida útil, además las temperaturas altas causadas por la exposición directa a la luz solar pueden alterar importantes características de calidad como la síntesis de azúcares, ácidos orgánicos y moléculas antioxidantes (Moretti et al., 2010; Neugart et al., 2012). La disponibilidad de nutrientes en las plantas tienen impacto significativo en el color, textura, susceptibilidad a enfermedades, composición y desarrollo de desórdenes fisiológicos del fruto (Tyagi et al., 2017). Ciertos tipos de alteraciones fisiológicas se originan a partir de desbalances nutrimentales en la etapa de pre-cosecha (Benichou et al., 2018). Un ejemplo es el

calcio que se une a los grupos carboxilos localizados en la estructura de la pectina esto causa un aumento en la firmeza del fruto y también estabiliza la pared celular de la planta, protegiéndola de la degradación enzimática, lo cual se traduce en mayor vida de anaquel (Braccini and Pérez, 2001; White and Broadley, 2003). La maduración de zarzamora está acompañada de un cambio de coloración así como incremento de azúcares, disminución de acidez y de acumulación de antocianinas Sun et al. (2013). La zarzamora produce cantidades muy pequeñas de etileno y responde pobremente a tratamientos de éste (Benichou et al., 2018). La transpiración o pérdida de agua resulta en pérdidas cuantitativas indirectas, como el peso, textura y calidad nutricional (Yahia, 2011). La regulación de la pérdida de agua es controlada por cubiertas protectoras externas como la cutícula (Kader, 2002). La cutícula provee una barrera impermeable entre las células epidérmicas y el ambiente, regula el intercambio gaseoso, también provee resistencia contra estrés biótico y abiótico y al daño mecánico causado por microorganismos (Bargel et al., 2006).

2.3.1 Maduración y senescencia

La maduración se refiere a los cambios fisiológicos y bioquímicos de un fruto para alcanzar estados deseables de color, sabor, aroma, contenido de azúcar y textura. El proceso de maduración normalmente comienza después que el fruto está completamente desarrollado. La maduración de un fruto puede ocurrir en la planta o después de la cosecha (Li et al., 2012). Desde el punto de vista agronómico, el valor nutricional, el sabor y la vida de anaquel determinan la calidad de un fruto (Hiwasa-Tanase et al., 2014). El contenido de pigmentos es importante en el proceso de control de la fotosíntesis, crecimiento y desarrollo de las plantas (Sudhakar et al., 2016). Los pigmentos incluyen la clorofila, de color verde, los carotenoides de color amarillo, naranja o rojos, las antocianinas de color rojo, azul o morado (Choo, 2019). El color verde en las plantas superiores, incluyendo sus frutos, se debe a la clorofila, que participa en la fotosíntesis, uno de los procesos más importantes para la vida, convirtiendo energía luminosa en energía química (Sudhakar et al., 2016). La degradación de la clorofila durante la maduración provoca cambios en el color de las frutas, revelando pigmentos sintetizados previamente. Este proceso es usualmente seguido por la biosíntesis de pigmentos como carotenoides y antocianinas (Tucker, 1993). El contenido de ácidos orgánicos en las frutas en desarrollo es generalmente alto lo que les otorga características extremadamente ácidas debido al alto porcentaje de ácidos orgánicos, el cuál generalmente decrece durante la maduración debido a la conversión hacia azúcares (Goodenough et al., 1985). Los cambios en el sabor y aroma generalmente aparecen cuando el fruto ha alcanzado la madurez. Los compuestos volátiles aromáticos presentes en las frutas son en su mayoría ésteres y alcoholes (Gunata et al., 1985). El sabor es un rasgo muy subjetivo que involucra la interacción y proporción de diversos metabolitos como azúcares, ácidos orgánicos y compuestos aromáticos (Baldwin et al., 1999). Conforme el fruto avanza en su madurez existen cambios en la firmeza ya que las paredes celulares están menos interconectadas debido a la degradación de la pectina y la expansión del espacio intracelular resultando en la reducción de la firmeza. Durante la maduración las paredes celulares pierden polisacáridos estructurales continuamente (Huang et al., 2005). La respiración se define como la cantidad CO_2 producido o O_2 consumido

por una determinada cantidad de fruta durante un intervalo de tiempo. La tasa de respiración normalmente se incrementa durante el proceso de maduración (Li, 2012). Aunque la zarzamora es considerado un fruto no climatérico, que solo pueden madurar en la planta, tiene altas tasas de respiración lo que reduce el tiempo de vida útil (Pech et al., 2012; De la Vega et al., 2017).

2.3.2 Ataque de patógenos

La mayoría de los patógenos dependen de algún daño físico o desorden fisiológico para invadir los tejidos, algunos pocos pueden ser capaces de penetrar activamente la piel de un fruto saludable (Kader, 2002). Los hongos patógenos más comunes que pueden causar deterioro de la zarzamora son *Botrytis cinerea* y *Fusarium oxysporum*. *B. cinerea* que es capaz de presentarse en tallos, hojas, flores y semillas. La presencia de *B. cinerea* puede desencadenar síntomas en etapas de pre-cosecha o permanecer inactivo hasta el periodo pos-cosecha (Fillinger and Elad, 2016). Debido a su importancia económica y científica *B. cinerea* ha sido clasificado como el segundo patógeno vegetal más importante causando pérdidas anuales estimadas en 10 billones de dólares mundialmente (Dean et al., 2012; Weiberg et al., 2013). *B. cinerea* tiene un amplio rango de hospederos y es capaz de infectar tejidos vegetales a través de heridas superficiales durante la cosecha y el manejo subsecuente, y desarrollar moho durante el almacenamiento. Puede sobrevivir en un amplio rango de condiciones como saprófito, donde coloniza hojas muertas y otras porciones senescentes de la planta hasta comenzar su actividad patogénica durante la floración (Romanazzi and Droby, 2016). Una gran variedad de compuestos volátiles y extractos de plantas como etanol, alcohol bencílico, jasmonatos e isocianatos han demostrado tener un actividad antifúngica en la infección por *Botrytis cinerea* bajo condiciones de laboratorio (Tripathi and Dubey, 2004). La aplicación de compuestos fenólicos ha demostrado resultados prometedores en la prevención de *B. cinerea*. El ácido ferúlico mostró inhibición del crecimiento, influyendo sobre la germinación y la tasa de crecimiento del micelio (Patzke and Schieber, 2018). El pterostilbeno y piceatanol previnieron significativamente el deterioro y la incidencia de la enfermedad causada por *B. cinerea* (Xu et al., 2018). El género *Fusarium* es otro patógeno de importancia que afecta el cultivo de zarzamora, ocasiona enfermedades caracterizadas por marchitez, tizones, pudriciones en cultivos. La especificidad del hospedero depende de cada especie de *Fusarium*. El hongo puede sobrevivir en el suelo como micelio o como esporas en ausencia de sus anfitriones, y si se encuentra cerca una planta hospedera, la infección puede iniciar en las raíces, en partes de la planta por encima del suelo, a través del aire o el agua (Ma et al., 2013). *Fusarium oxysporum* causa marchitez debido a la colonización del tejido vascular y puede ser dispersado por diversos medio incluidos el viento, el suelo, las semillas o material vegetal infectado (Leslie and Summerell, 2008). Los compuestos fenilpropanoides se han relacionado en las actividades de defensa, como el endurecimiento de pared celular, actividad antimicrobiana y repelentes (Taiz and Zeiger, 2006). Se ha observado una relación entre el contenido total de compuestos fenólicos y flavonoides y la actividad antifúngica contra *F. oxysporum* lo cual se podría atribuir a que los compuestos fenólicos tienen influencia sobre la síntesis, secreción y actividad de las hidrolasas (Mohamed et al., 2017).

2.3.3 Actividad Enzimática

Superóxido dismutasa y Catalasa

El sistema antioxidante de las plantas incluye enzimas como la superóxido dismutasa (**SOD; EC 1.15.1.1**) y la catalasa (**CAT; EC 1.11.1.6**). La superóxido dismutasa es un catalizador para la conversión del anión superóxido (O_2^-) a peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y oxígeno molecular (O_2) (Saibi and Brini, 2018). La catalasa es una enzima indispensable en el proceso de conversión directa de H_2O_2 a O_2 y H_2O en procesos de desintoxicación de especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) bajo condiciones de estrés vegetal (Garg and Manchanda, 2009). Una alta presencia de ROS puede ser perjudicial para la calidad de la fruta ya que provoca la oxidación de diversos componentes de la pared celular afectando su integridad e inactivando funciones celulares clave (Halliwell and Gutteridge, 2015). Algunas condiciones en las frutas como el oscurecimiento, alto contenido de peróxido de hidrógeno, estrés oxidativo y maduración están relacionados con la actividad enzimática de SOD y CAT (Mondal et al., 2004; Asghari and Aghdam, 2010; Saba and Moradi, 2016; Wang et al., 2018a). La actividad enzimática contra las especies reactivas de oxígeno pudiera estar relacionada a la mejora de la vida de anaquel de la zarzamora reduciendo el el daño celular y estrés oxidativo en el fruto.

Fenilalanina amonio liasa

La síntesis de compuestos fenólicos comienza con la fenilalanina y está referida como la ruta fenilpropanoide (Haslam, 1988; Li et al., 2012). El principal regulador de dicha ruta metabólica es la Fenilalanina amonio liasa (**PAL; EC 4.3.1.24**) (Kessmann et al., 1994). La fenilalanina es convertida en ácido cinámico, posteriormente en coumaroil-CoA, como resultado se producen compuestos fenólicos adicionales y en algunos casos polimerización de lignina (Cocuron et al., 2018). Se ha reportado que los compuestos fenólicos pueden retrasar las invasiones microbianas y el deterioro de frutas (Martillanes et al., 2017). Los compuestos sintetizados a partir de la ruta fenilpropanoide han sido relacionados con actividades de defensa en las plantas como reforzamiento de la pared celular, actividades repelentes y antimicrobianas (Taiz and Zeiger, 2006). Estos compuestos pueden ser almacenados en las vacuolas o depositados en la pared celular y pueden unirse mediante enlaces éster o éter a los polisacáridos o hemicelulosas de la pared celular o ser polimerizados en lignina (Lewis and Yamamoto, 1990). Ha sido reportado que una disminución o bloqueo del metabolismo fenilpropanoide puede llevar a la acumulación de compuestos inhibitorios del crecimiento, reducción en el contenido de lignina teniendo como resultado un debilitamiento de la pared celular y colapso vascular (Muro-Villanueva et al., 2019). Por otra parte, la activación del metabolismo fenilpropanoide pudiera resultar en una mejora en las características de la pared celular.

Poligalacturonasa

Los cambios en la pared celular relacionados al ablandamiento de las frutas derivan de la activación de enzimas hidrolíticas de la pared celular, incluyendo la

poligalacturonasa (**PG; EC 3.2.1.15**) , responsable por la degradación de la pectina, uno de los principales componentes de adhesión celular. La degradación del ácido pectínico y la cadena principal de ácido galacturónico provocan la disolución de la pared celular (Wakabayashi et al., 2000; Brummell et al., 2004). La zarzamora es conocida por tener una piel delgada y frágil, la disminución de la actividad de enzimas hidrolíticas degradadoras de la pared celular podría incrementar su vida de anaquel y resistencia a factores de deterioro.

2.4 Elicitores y sus efectos en las plantas

Un elicitor se define como una sustancia que puede promover respuestas en las plantas (Figura 2.1), principalmente relacionadas a mecanismos de defensa (Namdeo et al., 2007).

El uso de elicitores puede promover la actividad de enzimas como SOD, CAT y PAL relacionadas a la formación de compuestos que las plantas utilizan como defensa y también protección contra estrés oxidativo. También existen reportes de la disminución de la actividad de hidrolasas y enzimas de degradación de la pared celular como la poligalacturonasa. Las propiedades biomecánicas de frutos con vida de anaquel corta como las zarzadoras representan un aspecto importante de su calidad. Es de gran interés aumentar la actividad de enzimas relacionadas a la protección del fruto y disminuir la actividad de enzimas relacionadas a la senescencia, procesos de ablandamiento y maduración.

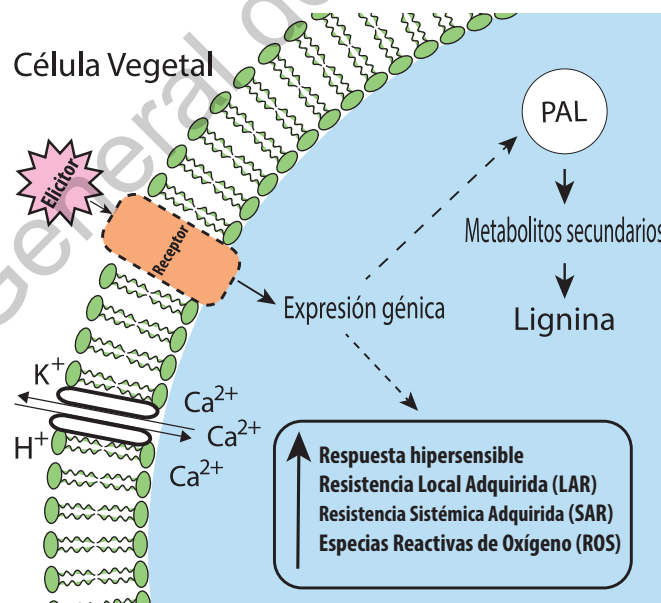


Figura 2.1 Interacción entre elicitores y células vegetales.

Adaptación: (Dixon and Paiva, 1995; Baenas et al., 2014; Cocuron et al., 2018)

Las respuestas de las plantas a factores de estrés incluyen la producción de metabolitos secundarios y especies reactivas de oxígeno, la activación de mecanismos enzimáticos, de defensa e intercambio iónico. Además de la regulación del crecimiento vegetal y calidad de los frutos (Vázquez-Hernández et al., 2019).

2.4.1 Ácido salicílico

El ácido salicílico es una fitohormona de origen fenólico con importancia en el crecimiento y desarrollo de las plantas. La aplicación de ácido salicílico exógeno ha mostrado un gran potencial para prevenir el deterioro de frutas y vegetales en pos-cosecha ya que activa una respuesta defensiva general que incluye la activación de la ruta fenilpropanoide relacionada a la resistencia sistémica adquirida vegetal (Kessmann et al., 1994; Asghari and Aghdam, 2010; Li et al., 2012). La respuesta de defensa que son activadas en el sitio de ataque o infección es conocida como resistencia local adquirida (LAR), que subsecuentemente desencadena las respuestas de defensa sistémicas para proteger las partes no dañadas o alejadas de la planta de los ataques de patógenos (Figura 2.2), dicha respuesta conocida como resistencia sistémica adquirida (SAR) activa genes específicos que codifican proteínas con actividad antimicrobiana (Durrant and Dong, 2004; van Loon et al., 2006).

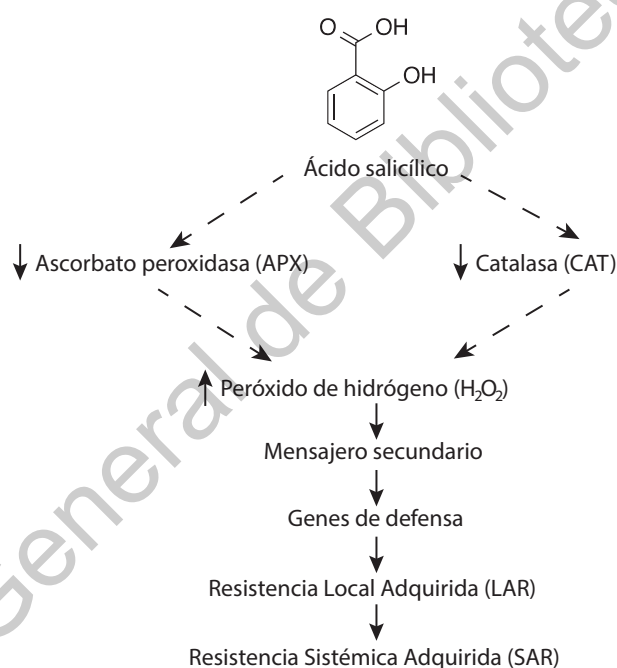


Figura 2.2 Efecto del ácido salicílico en la resistencia en plantas.

Modificado: (Asghari and Aghdam, 2010)

La aplicación de SA ha mostrado reducción significativa en la actividad de enzimas degradadoras de la pared celular (Peng and Jiang, 2006; Lu et al., 2011). La aplicación de SA ha reportado efectos positivos en diversos frutos (Tabla 2.3). Algunos de ellos son la disminución de la pérdida de peso, deterioro, ablandamiento, reducción significativa en la actividad de enzimas degradadoras de la pared celular y mejoramiento de propiedades como la firmeza y protección contra reacciones oxidativas. (Peng and Jiang, 2006; Lu et al., 2011; Shafiee et al., 2010; Moreno et al., 2015; Lo'ay, 2017; Lo'ay and El-Boray, 2018).

Tabla 2.3 Ácido salicílico para mejorar la calidad de frutos.

Cultivo	Forma de aplicación	Concentración	Resultados reportados	Referencia
<i>Vitis vinifera</i> L. (cv Flame seedless)	Aplicación foliar	4mM	Reducción en la pérdida de agua. Reducción de la actividad de la polifenol oxidasa.	(Lo'ay and El-Boray, 2018)
<i>Cucumis sativus</i> L. (cv. Deltastar)	Cubierta	0.10 %	Reducción del daño por frío y goteo.	(Zhang et al., 2015)
<i>Vitis vinifera</i> L. (cv. Yongyou)	Aplicación foliar	2mM	Reducción en la pérdida de peso y pudrición.	(Shen and Yang, 2017)
<i>Citrus paradisi</i> Macf.	Inmersión de la fruta	2mM	Reducción en la incidencia de enfermedades.	(Shi et al., 2018)
<i>Fragaria ananassa</i> (cv. Camarosa)	Inmersión de la fruta	2mM	Mejora de la firmeza. Reducción del deterioro y pérdida de peso. Aumento de vitamina C.	(Shafiee et al., 2010)
<i>Ananas comosus</i> L. (cv. Comte de Paris)	Aplicación foliar. Inmersión de la fruta	2 mM 5 mM	Retraso del oscurecimiento	(Lu et al., 2011)
<i>Vitis vinifera</i> L. (cv Superior Seedless)	Aplicación foliar	1-4 mM	Mejora en la firmeza. Reducción del oscurecimiento y pérdida de peso.	(Lo'ay, 2017)

2.4.2 Quitosano

El quitosano es un polisacárido lineal derivado de la quitina, que es el segundo polisacárido natural más abundante en la naturaleza después de la celulosa (Aider, 2010). Tiene un amplio rango de aplicaciones incluyendo estimulación de crecimiento de las plantas, efecto antimicrobiano, vehículo para otras moléculas, y es efectivo elicitando el sistema inmune innato de las plantas (Yin et al., 2010). Una amplia variedad de actividades biológicas del quitosano han sido reportadas, incluyendo su habilidad para inducir mecanismos de resistencia en plantas, así como propiedades fungicidas y bactericidas (Rinaudo, 2006). Se ha reportado que el quitosano activa la elicitación de fitoalexinas (Wu et al., 2005).

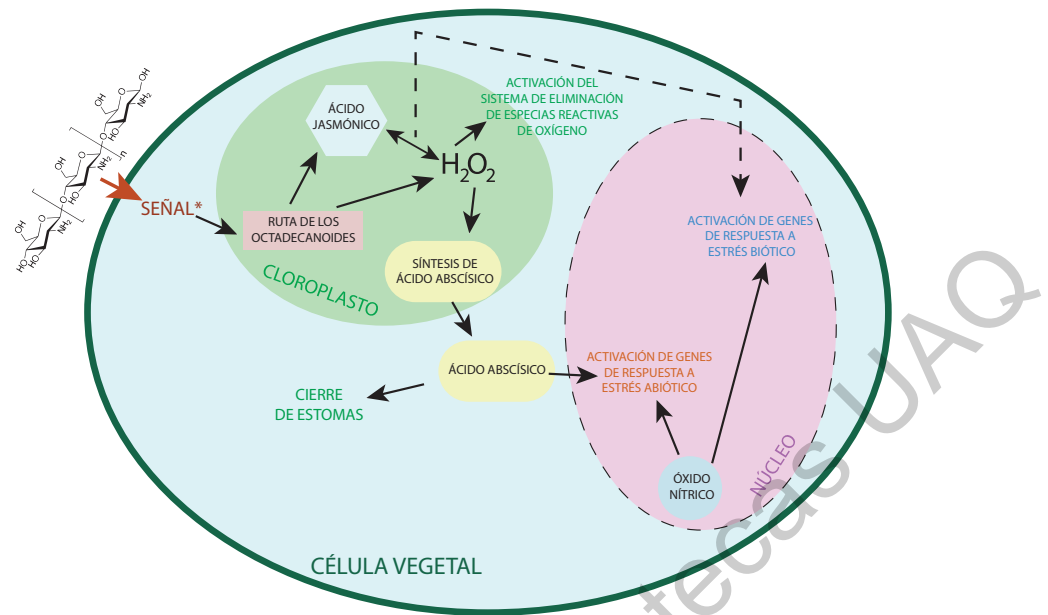


Figura 2.3 Respuestas activadas por el quitosano en una célula vegetal.
Modificado: (Pichyangkura and Chadchawan, 2015)

La interacción entre el quitosano y las células vegetales (Figura 2.3), envía una señal a los cloroplastos provocando generación de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y óxido nítrico (NO) como mensajeros secundarios. La ruta de los octadecanoides es necesaria para generar la producción de H_2O_2 e inducir respuestas de defensa similares a ataques de patógenos o heridas en las plantas (Lin et al., 2005). La aplicación principal del quitosano ha estado relacionada al desarrollo de películas y recubrimientos por su potencial para prolongar la vida de anaquel en frutas como fresas y arándanos (Tabla 2.4). Se ha reportado que el uso de quitosano puede disminuir el crecimiento de *F. oxysporum* y *B. cinerea*, la pérdida de peso en fruta e incrementar la actividad de la enzima PAL (Bautista Baños et al., 2004; Hernández-Muñoz et al., 2006; Silva Júnior et al., 2014).

Tabla 2.4 Quitosano para mejorar la calidad de frutos.

Cultivo	Forma de aplicación	Concentración	Resultados reportados	Referencia
<i>Fragaria ananassa</i> (cv. Gavita)	Cubierta	0.5 %	Reducción de la pérdida de agua. Preservación de las características mecánicas y organolépticas.	(Barikloo and Ahmadi, 2018)
<i>Rubus idaeus L.</i> (cv. Autumn Bliss)	Inmersión de la fruta. Aplicación foliar	0.5-2 %	Disminución en la tasa de respiración, producción de etileno, oscurecimiento y pérdida de peso.	(Tezotto-Uliana et al., 2014)
<i>Vaccinium virgatum</i>	Cubierta	1 %	Preservación de la firmeza y reducción del crecimiento microbiano.	(Sun et al., 2014)
Varios	Cubierta	Varias	Reducción del crecimiento de patógenos en la fruta.	(Grande-Tovar et al., 2018)
<i>Fragaria chiloensis L.</i>	Aplicación foliar	1.5 %	Mejora y preservación en la firmeza. Reducción en la pudrición.	(Saavedra et al., 2016)
<i>Vitis vinifera L.</i> (cv. Italia)	Inmersión de la fruta	0.5-1 %	Reducción de enfermedades.	(Romanazzi et al., 2002)
<i>Vaccinium sp.</i>	Inmersión de la fruta	1 %	Preservación de la firmeza. Aumento de la capacidad antioxidante.	(Mannozi et al., 2018)
<i>Prunus persica</i> (cv. Ruiguang 7)	Cubierta	1 %	Reducción en la tasa de respiración. Preservación de la firmeza. Retraso de la senescencia.	(Zhang et al., 2019b)
<i>Actinidia kolomikta</i>	Cubierta	1 %	Preservación de la firmeza. Preservación del contenido de vitamina C.	(Drevinskas et al., 2017)
<i>Vitis vinifera L.</i> (cv. Montepulciano)	Aplicación foliar	0.03 %	Estimulación enzimática y estimulación de mecanismos de defensa. Acumulación de compuestos con beneficios para la salud.	(Lucini et al., 2018)

3 Hipótesis

La elicitación con quitosano y ácido salicílico en zarzamora, alarga la vida de anaquel, debido a su acción sobre la actividad enzimática relacionada con la resistencia del fruto a factores de deterioro en contraste con un grupo control.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

4 Objetivos

4.1 Objetivo General

Describir el efecto de la elicitación con quitosano y ácido salicílico sobre la vida de anaquel, resistencia a factores de deterioro y actividad enzimática del fruto de zarzamora.

4.2 Objetivos Específicos

- Determinar el índice de comercialización como indicador de la vida de anaquel para contrastar el efecto de los tratamientos.
- Establecer la relación el contenido de sólidos solubles totales, acidez titulable e índice de maduración en el fruto de zarzamora dirigido a describir su efecto sobre la calidad del fruto.
- Determinar el efecto de los tratamientos en la resistencia y daño mecánico del fruto de zarzamora.
- Describir la actividad enzimática del fruto de zarzamora en relación a los mecanismos de acción de los tratamientos durante el proceso de maduración.

5 Metodología

5.1 Descripción del área de estudio

El lote experimental se estableció en la Comunidad de Senegal de las Palomas, municipio de San Juan del Río, Querétaro (20.436092, -100.085137). El clima es subhúmedo con lluvias en verano. La temperatura media anual es de 16.5 °C, con una precipitación anual promedio de 572 mm.



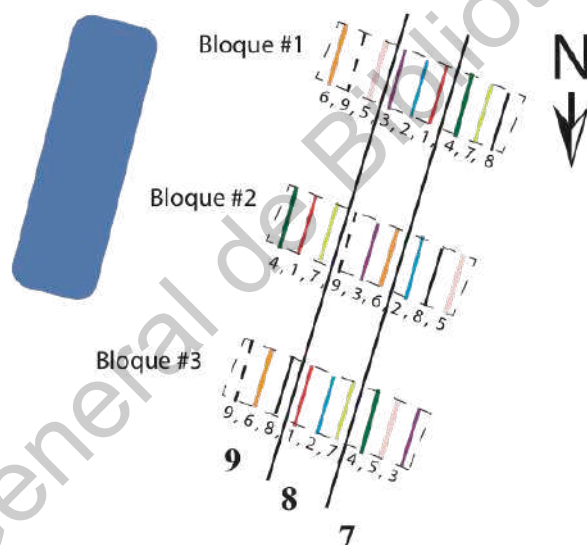
Figura 5.1 Localización del lote experimental.

5.2 Material Vegetal

Plantas de la variedad “Tupi” establecidas en mayo de 2016, bajo sistema de macro-túneles y sistema de riego por goteo con hileras de plantas separadas 2.4 m entre sí, con una distancia entre plantas de 0.80 m. El manejo general de la parcela se ajusta a los requerimientos requeridos por la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (antes SAGARPA) para la producción agrícola orgánica y NOP (National Organic Program) del departamento de Agricultura de los Estados Unidos. Se realizaron las labores culturales esenciales de poda de activación, nutrición foliar, despunte, riego, poda de rebrote y desyerbe para el mantenimiento y manejo de cultivo durante el ciclo 2019.

5.3 Tratamientos pre-cosecha

Se realizó la preparación de tratamientos de ácidos salicílico (SA, grado reactivo. J.T. Baker, USA. Grado reactivo) y quitosano (CHS, grado técnico, bajo peso molecular, 50,000-190,000 Da. Alzor[®] Biotechnologies, México) a diferentes concentraciones. Los tratamientos se aplicaron vía foliar utilizando un aspersor de mano a punto de goteo con un volumen de 1 L por cada 80 plantas. El diseño experimental fue de bloques al azar con 6 tratamientos (SA 1 mM, SA 2 mM, SA 3 mM, CHS 0.25 %, CHS 0.5 %, CHS 1 %) y un control, cada uno con 3 repeticiones de 28 plantas. Para las determinaciones de acidez titulable, sólidos solubles totales y actividad enzimática se seleccionaron zarzamoras en su punto de maduración, sin evidencia de daño mecánico o enfermedad, con un color negro brillante, drupas firmes separadas y de fácil desprendimiento, ubicadas en partes similares de la planta. Se colocaron en clamshells de PET comerciales de 6 Oz y en aislamiento térmico para su transporte, posteriormente fueron almacenadas a -70°C hasta el momento de las pruebas.



Tratamiento	Identificador
AS 1 mM	1
AS 2 mM	2
AS 3 mM	3
CHS 0.25%	4
CHS 0.5%	5
CHS 1%	6
Control	7

Figura 5.2 Distribución de tratamientos.

5.3.1 Determinación de firmeza

Se realizaron dos recolecciones, 5 y 24 horas posteriores a la aplicación de los tratamientos y en tres estados de maduración: verde, roja y negra. Se seleccionaron zarzamoras sin evidencia de daño mecánico o enfermedad. Se colocaron en clamshells de PET comerciales de 6 Oz para su transporte. Se realizó la medición de

dureza utilizando un durómetro manual para frutas (GY-3 CMS Metrology, USA). La unidad experimental fue de 25 zarzamoras con 3 repeticiones.



Figura 5.3 Determinación de firmeza.

5.3.2 Índice de comercialización

Se realizaron dos recolecciones: 5 y 24 horas posteriores a la aplicación de los tratamientos, grupo A y grupo B respectivamente). Se seleccionaron zarzamoras en su punto de maduración, sin evidencia de daño mecánico o enfermedad, con un color negro brillante, drupas firmes separadas y de fácil desprendimiento, ubicadas en partes similares de la planta. Se colocaron en clamshells de PET comerciales de 6 Oz y en aislamiento térmico con gelpacks enfriados a -70°C . Se realizó el monitoreo de temperatura y humedad relativa. Las muestras se mantuvieron entre $0-1^{\circ}\text{C}$ durante 12 horas, se removieron los gel packs para simular condiciones de transporte comercial para exportación y posteriormente se mantuvieron a una temperatura ambiente promedio de $22-23^{\circ}\text{C}$. Se realizó la medición de las variables de respuesta cada 24 horas durante 144 horas. La unidad experimental fue de 18 zarzamoras con 3 repeticiones. Se realizó el registro de incidencia de los factores goteo, reversión y presencia de micelio. Se realizó el cálculo del índice de comercialización de acuerdo a (Clark and Perkins-Veazie, 2011). Se seleccionaron tres factores de deterioro para conformar el índice de comercialización: reversión, goteo y presencia de micelio.



Figura 5.4 Montaje experimento para determinación de índice de comercialización.

5.3.3 Acidez titulable

La determinación se realizó con base en la metodología de la AOAC 942.15 (AOAC, 2000). Brevemente, se prepararon muestras del jugo de zarzamora, se pesaron y diluyeron con agua destilada, se agregó indicador fenolftaleína y se titularon con una solución 0.1 N de hidróxido de sodio. Se realizaron tres determinaciones por muestra (triplicado). Se realizó el cálculo del porcentaje de acidez titulable tomando en cuenta un peso equivalente de ácido cítrico (0.064 g/eq). Se realizó el análisis de las muestras de los tratamientos SA 3 mM, CHS 0.25 % y control.



Figura 5.5 Determinación de acidez titulable.

5.3.4 Sólidos solubles totales

La determinación de sólidos solubles totales se realizó con un refractómetro digital (H196801, Hanna Instruments, USA). Brevemente, se tomó una muestra de peso conocido de jugo de zarzamora, se realizó una dilución, se midió con el refractómetro y posteriormente se calculó el porcentaje de sólidos solubles totales expresado en grados Brix ($^{\circ}$ Brix) tomando en cuenta el factor de dilución aplicado. Se realizó el análisis de las muestras de los tratamientos SA 3 mM, CHS 0.25 % y control.



Figura 5.6 Determinación de sólidos solubles totales.

5.3.5 Índice de maduración

El índice de maduración se calculó con la siguiente fórmula: SST/AT (Mikulic-Petkovsek et al., 2017). Donde SST= Sólidos Solubles totales ($^{\circ}$ Brix), AT= Acidez titulable (% ácido cítrico). Se realizó el análisis de las muestras de los tratamientos SA 3 mM, CHS 0.25 % y control.

5.3.6 Actividad enzimática

La actividad de la superóxido dismutasa (SOD; EC 1.15.1.1), catalasa (CAT; EC 1.11.1.6), y fenilalanina amonio liasa (PAL; EC 4.3.1.24) fueron determinadas de manera similar a (Beauchamp and Fridovich, 1971), (Aebi, 1984) y (Dickerson et al., 1984) respectivamente con algunas modificaciones. Brevemente, 500 mg de muestra liofilizada fueron molidos en frío con 2 a 4 ml de búfer de extracción de fosfato de sodio (pH=7.8). La muestra fue centrifugada por 20 minutos a 10,000 rpm y 4°C. El sobrenadante fue recolectado como extracto enzimático para las determinaciones de SOD, CAT, PAL y proteína total. **Para la actividad de SOD**, 0.05 ml de extracto enzimático fueron añadidos a una mezcla de reacción que contenía 1.5 ml de búfer

de fosfato de sodio (pH=7.8), 0.3 ml de EDTA 0.1 mM, 0.3 ml de metionina 0.13 M, 0.3 ml de NBT 0.75 M y 0.3 ml de riboflavina 0.02 M. Las muestras fueron expuestas a luz uniforme por 20 minutos. Se registró la absorbancia a 560 nm. Una unidad SOD (U) fue considerada como la cantidad de enzima necesaria para inhibir al 50 % la tasa de reducción del NBT bajo las condiciones de la prueba. **Para la actividad de CAT**, 0.3 ml del extracto enzimático fueron mezclados con 0.1 ml de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) 100 mM en 1.9 ml de búfer de fosfato de sodio (pH=7.8). La disminución en la absorbancia a 240 nm fue registrada cada 10 segundos por 1 minuto. Una unidad CAT fue igual a 1 μmol de H₂O₂ degradado por minuto. **Para actividad de PAL**, se añadieron 0.1 ml de extracto enzimático a 1.5 ml de búfer de borato 0.1 M/L-fenilalanina 10 mM (pH=8.8). Las muestras fueron incubadas por 1 hora a 40°C, 0.25 ml de HCl 1 N fueron añadidos para detener la reacción. Las muestras se dejaron reposar por 10 minutos a temperatura ambiente y la absorbancia fue registrada a 290 nm y comparadas con una curva de calibración de ácido trans-cinámico. Una unidad PAL fue considerada como 1 μmol de ácido trans-cinámico por minuto. **La proteína total** fue determinada de acuerdo a (Bradford, 1976) mezclando 0.05 ml de extracto enzimático y 1.5 ml de reactivo de Bradford. La absorbancia fue registrada a 595 nm y comparada con una curva de calibración de albúmina. La actividad enzimática fue expresada en U/mg de proteína para SOD, CAT y PAL. **La actividad de la poligalaturonasa (PG; EC 3.2.1.15)** fue determinada como porcentaje de reducción de la viscosidad de manera similar a (Abeles and Biles, 1991) y (Brummell et al., 2004) con algunas modificaciones. Brevemente, 500 mg de muestra liofilizada fueron molidos en frío con 5 ml de polietilenglicol al 12 %. Las muestras fueron centrifugadas a 13,000 g por 10 minutos a 4°C. El sobrenadante fue desechado y el pellet fue incubado por 2 horas a 4°C con NaCl 0.5 M y bufer de acetatos 50 mM (pH=4.4). Las muestras fueron centrifugadas a 13,000 g por 10 minutos a 4°C. El sobrenadante fue recuperado como extracto. Para el ensayo, 1 ml de extracto fue mezclado con 4 ml de una solución de pectina al 2% disuelta en búfer de acetatos 50 mM. La viscosidad fue estimada a temperatura ambiente midiendo el tiempo necesario para que la soluciones pasara de la marca de 0.4 a 0.9 ml en una pipeta graduada de 1 ml. La actividad de la PG fue expresada como actividad relativa comparada con un control a diferentes tiempos. Para la determinación de la actividad SOD: se realizaron dos recolecciones, 5 y 24 horas posteriores a la aplicación de los tratamientos y en tres estados de maduración: verde, roja y negra. Se seleccionaron zarzamoras sin evidencia de daño mecánico o enfermedad. Para la determinación de la actividad CAT, PAL y PG se realizó el análisis de las muestras de los tratamientos SA 3 mM, CHS 0.25 % y control.



Figura 5.7 Determinación de actividad enzimática.

5.4 Tratamientos pos-cosecha

Se realizó la recolección de zarzamoras en su punto de maduración. Se seleccionaron zarzamoras sin evidencia de daño mecánico o enfermedad, con un color negro brillante, drupas firmes separadas y de fácil desprendimiento, ubicadas en partes similares de la planta. Se realizó la preparación de tratamientos de ácido salicílico SA 3 mM y quitosano CHS 0.25 % derivado de las pruebas pre-cosecha. Los tratamientos se aplicaron mediante inmersión de la fruta durante 5 minutos en las soluciones, posteriormente se dejaron secar y se almacenaron. El diseño experimental fue de bloques al azar con 2 tratamientos y un control cada uno con 4 repeticiones. Para las determinaciones de acidez titulable, sólidos solubles totales y actividad enzimática se seleccionaron zarzamoras en su punto de maduración, sin evidencia de daño mecánico o enfermedad que posteriormente fueron almacenadas a -70°C hasta el momento de las pruebas.

5.4.1 Índice de comercialización

Los clamshells de PET comerciales de 6 Oz se colocaron en aislamiento térmico con gelpacks enfriados a -70°C . Se realizó el monitoreo de temperatura y humedad relativa. Las muestras se mantuvieron entre $0-1^{\circ}\text{C}$ durante 12 horas, se removieron los gel packs para simular condiciones de transporte comercial para exportación y posteriormente se mantuvieron a una temperatura ambiente promedio de $22-23^{\circ}\text{C}$. Se realizó la medición de las variables de respuesta cada 24 horas durante 96 horas. La unidad experimental fue de 18 zarzamoras con 4 repeticiones. Se realizó el registro de incidencia de los factores goteo, reversión y presencia de micelio. Se realizó el cálculo del índice de comercialización de acuerdo a (Clark and Perkins-Veazie, 2011). Se seleccionaron tres factores de deterioro para conformar el índice de comercialización: **reversión**, considerado como la aparición de coloración roja en las drupas, **goteo**, considerado como el derramamiento del líquido de las drupas y **presencia de micelio**, considerado como el crecimiento visible de micelio en la superficie de la fruta.

5.4.2 Acidez titulable

La determinación se realizó con base en la metodología de la AOAC 942.15 (AOAC, 2000). Brevemente, se prepararon muestras del jugo de zarzamora, se pesaron y diluyeron con agua destilada, se agregó indicador fenolftaleína y se titularon con una solución 0.1 N de hidróxido de sodio. Se realizaron tres determinaciones por muestra (triplicado). Se realizó el cálculo del porcentaje de acidez titulable tomando en cuenta un peso equivalente de ácido cítrico (0.064g/eq).

5.4.3 Sólidos solubles totales

La determinación de sólidos solubles totales se realizó con un refractómetro digital (H196801, Hanna Instruments, USA). Brevemente, se tomó una muestra de peso conocido de jugo de zarzamora, se realizó una dilución, se midió con el refractómetro y posteriormente se calculó el porcentaje de sólidos solubles totales expresado en grados Brix ($^{\circ}$ Brix) tomando en cuenta el factor de dilución aplicado.

5.4.4 Índice de maduración

El índice de maduración se calculó con la siguiente fórmula: SST/AT (Mikulic-Petkovsek et al., 2017). Donde SST= Sólidos Solubles totales ($^{\circ}$ Brix), AT= Acidez titulable (% ácido cítrico).

5.4.5 Actividad enzimática

La actividad de la superóxido dismutasa (SOD; EC 1.15.1.1), catalasa (CAT; EC 1.11.1.6), y fenilalanina amonio liasa (PAL; EC 4.3.1.24) fueron determinadas de manera similar a (Beauchamp and Fridovich, 1971), (Aebi, 1984) y (Dickerson et al., 1984) respectivamente con algunas modificaciones. Brevemente, 500 mg de muestra fueron molidos en frío con 2 a 4 ml de búfer de extracción de fosfato de sodio (pH=7.8). La muestra fue centrifugada por 20 minutos a 10,000 rpm y 4°C. El sobrenadante fue recolectado como extracto enzimático para las determinaciones de SOD, CAT, PAL y proteína total. **Para la actividad de SOD**, 0.05 ml de extracto enzimático fueron añadidos a una mezcla de reacción que contenía 1.5 ml de búfer de fosfato de sodio (pH=7.8), 0.3 ml de EDTA 0.1 mM, 0.3 ml de metionina 0.13 M, 0.3 ml de NBT 0.75 M y 0.3 ml de riboflavina 0.02 M. Las muestras fueron expuestas a luz uniforme por 20 minutos. Se registró la absorbancia a 560 nm. Una unidad SOD (U) fue considerada como la cantidad de enzima necesaria para inhibir al 50% la tasa de reducción del NBT bajo las condiciones de la prueba. **Para la actividad de CAT**, 0.3 ml del extracto enzimático fueron mezclados con 0.1 ml de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) 100 mM en 1.9 ml de búfer de fosfato de sodio (pH=7.8). La disminución en la absorbancia a 240 nm fue registrada cada 10 segundos por 1 minuto. Una unidad CAT fue igual a 1 μmol de H_2O_2 degradado por minuto. **Para la actividad de PAL** se añadieron 0.1 ml de extracto enzimático a 1.5 ml de búfer de borato 0.1 M/L-fenilalanina 10 mM (pH=8.8). Las muestras fueron incubadas por 1 hora a 40°C, 0.25 ml de HCl 1 N fueron añadidos para detener la reacción. Las muestras se dejaron reposar por 10 minutos a temperatura

ambiente y la absorbancia fue registrada a 290 nm y comparadas con una curva de calibración de ácido trans-cinámico. Una unidad PAL fue considerada como 1 μmol de ácido trans-cinámico por minuto. **La proteína total** fue determinada de acuerdo a (Bradford, 1976) mezclando 0.05 ml de extracto enzimático y 1.5 ml de reactivo de Bradford. La absorbancia fue registrada a 595 nm y comparada con una curva de calibración de albúmina. La actividad enzimática fue expresada en U/mg de proteína para SOD, CAT y PAL.

5.5 Análisis de datos

El análisis de datos se realizó con el software JMP[®] ANOVA de una sola vía (Versión 12.1.0), con los datos obtenidos se efectuaron análisis para la presencia de diferencias estadísticas significativas entre las variables de respuesta dureza, acidez titulable, sólidos solubles totales, e índice de madurez utilizando la prueba de comparación de HSD Tukey-Kramer. Se realizó una comparación de proporciones con prueba exacta de Fisher para las variables de deterioro. Se realizó una prueba con valores transformados para el índice de comercialización (IBM[®] SPSS Statistics, Versión 25). Se realizó un análisis de varianza con valores transformados para la presencia de diferencias estadísticas significativas en la actividad enzimática de la poligalacturonasa (JMP[®], Versión 12.1.0).

Todas las determinaciones experimentales se realizaron tomando en cuenta las buenas prácticas de laboratorio (Sección 9.1).

6 Resultados y discusión

6.1 Tratamientos pre-cosecha

6.1.1 Determinación de firmeza

Los resultados mostrados en indican una tendencia en el comportamiento de la firmeza en ambas recolecciones, de manera similar a lo reportado por Horvitz et al. (2017) y Zhang et al. (2019a). La firmeza alcanza su valor máximo en etapas tempranas y disminuye conforme el fruto avanza en la maduración Tabla 6.1.

Tabla 6.1 Firmeza del fruto de zarzamora en diferentes etapas de maduración.

Tratamiento	Estado de maduración			Tratamiento	Estado de maduración		
	Verde	Roja	Negra		Verde	Roja	Negra
SA 1 mM	6.13 bc	5.67 ab	3.14 a	SA 1 mM	8.17 ab	5.68 ab	2.23 a
SA 2 mM	5.34 cd	4.47 b	2.69 ab	SA 2 mM	8.17 ab	7.46 a	2.86 a
SA 3 mM	5.71 cd	5.28 ab	3.33 a	SA 3 mM	7.92 ab	4.55 b	2.19 a
CHS 0.25%	6.87 b	6.09 ab	2.96 ab	CHS 0.25%	7.24 bc	6.32 ab	2.49 a
CHS 0.5%	8.30 a	5.68 ab	-----	CHS 0.5%	7.50 abc	4.52 b	2.21 a
CHS 1%	7.95 a	6.15 a	2.44 b	CHS 1%	6.29 c	4.70 b	2.19 a
CONTROL	5.09 d	4.68 ab	2.49 ab	CONTROL	6.46 c	4.74 b	2.27 a

(a) 5 horas

(b) 24 horas

Dureza expresada en kg/cm².

Prueba HSD Tukey- Kramer. n= 72, α=0.05.

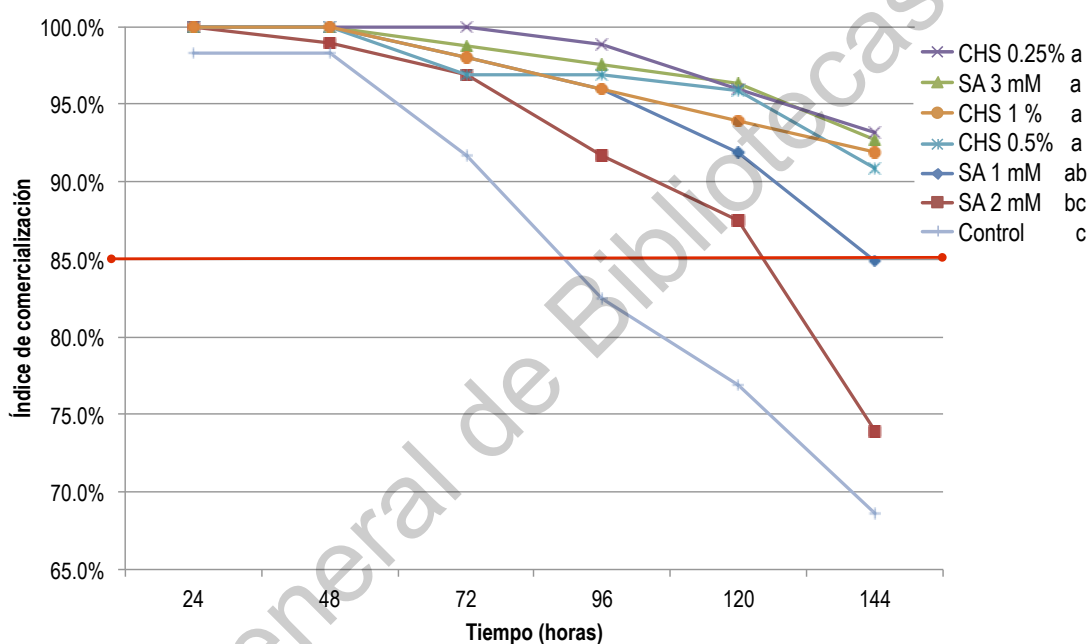
Letras diferentes indican diferencia significativa entre columnas.

Los tratamientos mostraron una tendencia a incrementar significativamente la firmeza respecto al control en etapas tempranas del desarrollo del fruto, sin embargo en la etapa final de maduración o de corte su efecto sobre la firmeza fue menor en la recolección a las 5 horas y no se presentó diferencia significativa en la recolección a las 24 horas. Este comportamiento indica que aplicaciones secuenciales de los tratamientos podrían presentar un efecto acumulativo en el fruto en contraste a una única aplicación, sin embargo se requiere la recolección de datos utilizando un esquema de aplicación secuencial para comprobar si los tratamientos podrían mantener la tendencia del aumento de firmeza en el fruto hasta la etapa cosecha.

6.1.2 Índice de comercialización

El índice de comercialización presentó un comportamiento similar en ambas recolecciones. Durante el tiempo que del desarrollo del experimento, los tratamientos del grupo A en todas sus concentraciones mantuvieron el índice de comercialización por encima del control, sin embargo para la última medición a las 144 horas el tratamiento ácido salicílico 2 mM se encontró por debajo del mínimo requerido del 85 %. El tratamiento control alcanzó el mínimo requerido entre las 72 y 96 horas, por lo que se puede observar que los mejores tratamientos de SA y CHS del grupo lograron preservar la fruta por al menos 48 horas más (Figura 6.1).

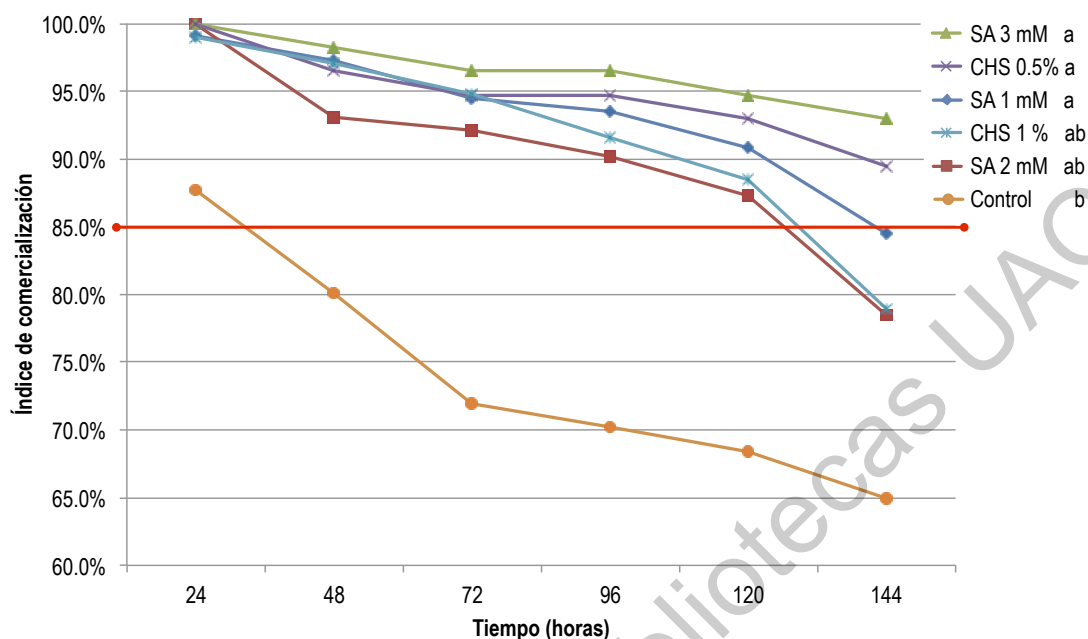
Figura 6.1 Índice de comercialización grupo A después de 144 horas.



Prueba *t* de Student con valores transformados ($1+\log x$) para 144 horas, $\alpha = 0.05$.
Letras diferentes indican diferencia significativa entre grupos.
Mínimo requerido 85 %.

Los tratamientos del grupo B mostraron una tendencia a ser menos efectivos ya que solo la aplicación de SA 3 mM y CHS 0.5% logró mantener el índice de comercialización por encima del mínimo requerido después de 144 horas (Figura 6.2). El control alcanzó el mínimo requerido entre las 24 y 48 horas, en contraste con los tratamientos de SA y CHS que lograron mantenerlo por al menos 72 horas más.

Figura 6.2 Índice de comercialización grupo B después de 144 horas.



Prueba *t* de Student con valores transformados ($1 + \log x$) para 144 horas, $\alpha = 0.05$. Letras diferentes indican diferencia significativa entre grupos. Mínimo requerido 85 %.

Los resultados concuerdan con lo reportado por Moreno et al. (2015), para el uso de ácido salicílico como tratamiento pre-cosecha en zarzamora. Las tendencias de ambas recolecciones fueron similares y mostraron mantener el índice de comercialización por encima del control y del mínimo requerido hasta las 96 horas.

Respecto al análisis de las variables individuales de deterioro se observó un mayor efecto en el fenómeno de reversión para ambos grupos (Tabla 6.2). Todos los tratamientos mostraron ser efectivos previniendo la reversión de la fruta en comparación con el control.

Tabla 6.2 Porcentaje de factores de deterioro presentes después de 144 horas.

Tratamiento	Reversión	Factor	
		Goteo	Micelio
SA 1 mM	3.0%*	30.3%	12.1%*
SA 2 mM	9.4%	37.5%	31.3%
SA 3 mM	0.0%*	11.1%*	7.4%*
CHS 0.25%	0.0%*	9.1%*	12.1%*
CHS 0.5%	0.0%*	12.1%*	15.2%
CHS 1%	0.0%*	6.1%*	18.2%
CONTROL	25.0%	33.3%	36.1%

(a) Recolección 5 horas

Tratamiento	Reversión	Factor	
		Goteo	Micelio
SA 1 mM	5.4%*	18.90%	21.60%
SA 2 mM	8.8%*	20.60%	35.30%
SA 3 mM	0.0%*	21%	10.5%*
CHS 0.5%	0.0%*	15.80%	15.8%*
CHS 1%	9.4%*	25%	28.10%
CONTROL	44.40%	25%	43.80%

(b) Recolección 24 horas

Prueba exacta de Fisher para proporciones, $\alpha = 0.05$. *Diferencia significativa respecto a control.

Dentro del grupo A el tratamiento con CHS 0.25 % mostró ser el más efectivo al prevenir los tres factores de deterioro. El grupo B no presentó diferencias significativas en la prevención de goteo para ningún tratamiento. De manera general los tratamientos presentaron mayor efectividad en el grupo A, lo que nos indica que una recolección 5 horas posterior a la aplicación puede ser más efectiva para disminuir el deterioro de la fruta y alargar su vida de anaquel.

Figura 6.3 Fotografías representativas tratamientos pre-cosecha.



*Tratamientos: A) CHS 0.25 % , B) SA 3 mM y C) Control.
Horas posteriores al almacenamiento.*

En la Figura 6.3 se puede comparar de manera visual la presencia de micelio, goteo y reversión en el control y los tratamientos. El tratamiento CHS 0.25 % fue el más efectivo al reducir la incidencia de los tres factores de deterioro evaluados. El tratamiento SA 3 mM redujo de manera significativa la reversión y el desarrollo de micelio en la superficie de la fruta.

6.1.3 Variables de calidad del fruto

Los valores de acidez total titulable, sólidos solubles totales e índice de maduración no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos y el control (Tabla 6.3).

Tabla 6.3 Variables de calidad del fruto.

Tratamiento	Variable		
	ATT (% ácido cítrico)	SST (°Brix)	Índice de maduración
SA 3 mM	1.90 ± 0.047 a	7.37 ± 0.047 a	3.88 ± 0.096 a
CHS 0.25%	1.78 ± 0.049 a	7.47 ± 0.047 a	4.22 ± 0.118 a
CONTROL	1.88 ± 0.088 a	7.46 ± 0.045 a	4.00 ± 0.185 a

Datos expresados como medias ±SEM, $\alpha=0.05$.

Letras diferentes indican diferencia significativa entre columnas.

La relación entre el contenido de sólidos solubles totales y acidez total titulable determinan en gran medida la percepción del consumidor sobre la calidad del fruto de zarzamora. Los resultados indican que no hubo un cambio por efecto de la aplicación de los tratamientos sobre las características organolépticas evaluadas.

6.1.4 Actividad enzimática

Se presentaron cambios en la actividad enzimática de la fruta tratada (Tabla 6.4). La actividad SOD se redujo con el tratamiento CHS 0.25 % y aumentó con SA 3 mM. La actividad CAT aumentó significativamente con SA 3 mM. La actividad PAL aumentó con ambos tratamientos, siendo mayor con SA 3 mM. Se ha reportado que la fruta en proceso de maduración o senescencia tiene una tasa mayor de conversión ROS derivado de los procesos oxidativos (Wang et al., 2009) . El balance entre la producción de enzimas antioxidantes y la producción de ROS puede causar estrés oxidativo debido a los altos niveles de radicales presentes en el ambiente o como subproductos del metabolismo vegetal, derivado de ello los niveles de estas especies químicas tienden a permanecer en niveles bajos en condiciones normales (Wang et al., 2018a).

Tabla 6.4 Actividad enzimática SOD, CAT y PAL.

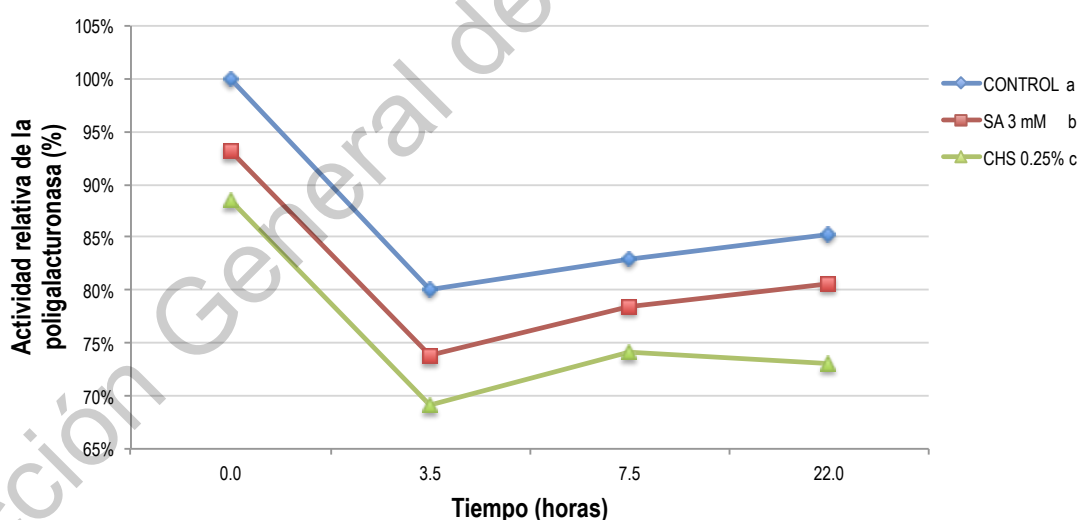
Tratamiento	Actividad enzimática (U/ mg de proteína)		
	SOD	CAT	PAL
SA 3 mM	31.59 ± 0.50 a	76.05 ± 4.28 a	6.27 ± 0.205 a
CHS 0.25%	15.00 ± 1.80 c	49.66 ± 2.34 ab	3.36 ± 0.008 b
CONTROL	21.00 ± 1.20 b	40.41 ± 9.39 b	1.93 ± 0.012 c

Prueba HSD Tukey-Kramer, $n=3$, $\alpha=0.05$.

Letras diferentes indican diferencia significativa entre columnas.

Existen reportes de que las actividad de SOD y CAT están relacionadas al retraso de los procesos de senescencia de los frutos (Saba and Moradi, 2016). La activación de la ruta fenilpropanoide por otra parte es una respuesta común de las plantas como mecanismo de defensa y puede promover el reforzamiento de la pared celular (Haslam, 1988; Muro-Villanueva et al., 2019). Con los resultados observados podemos inferir que los cambios en las actividades de SOD y CAT así como la activación de PAL indican que los tratamientos pueden tener un efecto protector contra el estrés oxidativo del fruto y mejorar su vida de anaquel.

Figura 6.4 Actividad enzimática relativa poligalacturonasa.



Los cambios en las paredes celulares derivados en el ablandamiento de los frutos están relacionados a la activación de enzimas de degradación, incluyendo la PG, que es responsable de la degradación de pectina, uno de los principales componentes de adhesión celular (Wakabayashi et al., 2000).

Tabla 6.5 Actividad enzimática poligalaturonasa.

Tratamiento	Horas después de la adición del extracto			
	0	3.5	7.5	22
CONTROL	0.996 ± 0.00248 a	0.995 ± 0.00316 a	0.996 ± 0.00360 a	0.996 ± 0.00259 a
SA 3 mM	0.974 ± 0.00171 b	0.978 ± 0.00419 b	0.963 ± 0.00199 b	0.984 ± 0.00253 b
CHS 0.25%	0.952 ± 0.00145 c	0.956 ± 0.00173 c	0.942 ± 0.00580 c	0.951 ± 0.00173 c

Datos expresados como porcentaje de viscosidad transformado ($1+\log x$).

Prueba HSD Tukey-Kramer, $n=3$, $\alpha=0.05$.

Letras diferentes indican diferencia significativa entre columnas.

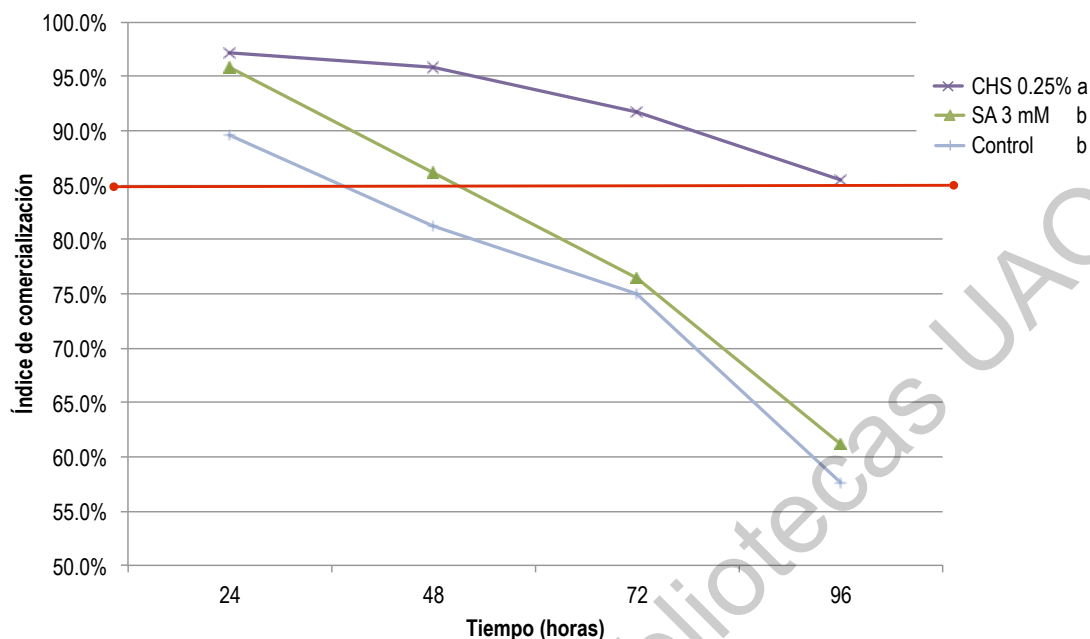
Los resultados mostraron actividad reducida de la PG que mantuvo esa tendencia en el tiempo con los tratamientos con SA 3 mM y CHS 0.25 % lo que indica que podrían tener un efecto de retraso de la degradación de la pared celular y por consecuencia una mejora en la vida de anaquel y resistencia a factores de deterioro del fruto de zarzamora (Figura 6.4 y Tabla 6.5).

6.2 Tratamientos pos-cosecha

6.2.1 Índice de comercialización

El índice de comercialización presentó un comportamiento similar para el tratamiento SA 3 mM y el control. El tratamiento CHS 0.25 % mantuvo el índice de comercialización por encima del mínimo requerido durante 96 horas (Figura 6.5).

Figura 6.5 Índice de comercialización después de 96 horas.



Prueba *t* de Student con valores transformados ($1 + \log x$) para 96 horas, $\alpha = 0.05$.
 Letras diferentes indican diferencia significativa entre grupos.
 Mínimo requerido 85 %.

Las variables individuales de deterioro no mostraron diferencias significativas entre el tratamiento SA 3 mM y el control. El tratamiento CHS 0.25 % mostró una reducción en la incidencia de reversión y goteo (Tabla 6.6). Se ha reportado que la reversión influye en las características estructurales y degradación de ciertos compuestos de la pared celular de la zarzamora (Edgley et al., 2019). Estos resultados son consistentes con los obtenidos en el experimento pre-cosecha y muestran una tendencia entre la reversión y la vida de anaquel de la zarzamora.

Tabla 6.6 Porcentaje de factores de deterioro presentes después de 96 horas.

Tratamiento	Factor		
	Reversión	Goteo	Micelio
SA 3 mM	27.1%	86.0%	2.1%
CHS 0.25%	8.3%*	31.3%*	4.2%
CONTROL	29.2%	87.5%	10.4%

Prueba exacta de Fisher para proporciones, $\alpha = 0.05$.
 *Diferencia significativa respecto a control.

El mejor tratamiento pos-cosecha CHS 0.25 % logró mantener el índice de comercialización por 96 horas. Mientras que el control y el tratamiento SA 3 mM llegaron al mínimo requerido antes de las 24 y 72 horas respectivamente. La variable de goteo

se presentó en mayor porcentaje, esto se podría atribuir a la absorción de humedad de la zarzamora durante la inmersión en los tratamientos, lo que puede provocar ablandamiento de los tejidos. De manera general los tratamientos por inmersión pos-cosecha mostraron una menor efectividad contra los factores de deterioro evaluados que los tratamientos pre-cosecha. Esto puede atribuirse al manejo adicional relacionado a la aplicación de los tratamientos. El proceso de inmersión en las soluciones podría generar un aumento de humedad de la fruta así como estrés mecánico en el cambio de empaque y proceso de secado.

Figura 6.6 Fotografías representativas tratamientos pos-cosecha.



Tratamientos: A) CHS 0.25 % , B) SA 3 mM y C) Control.
Horas posteriores al almacenamiento.

La Figura 6.6 muestra una comparación visual en la que se distingue la presencia de factores de deterioro en el control y los tratamientos. El tratamiento CHS 0.25 % fue el más efectivo al reducir la incidencia de goteo y reversión. El tratamiento SA 3 mM no redujo de manera significativa ninguno de los factores de deterioro.

6.2.2 Variables de calidad del fruto

Se presentaron diferencias significativas en los valores de acidez total titulable, sólidos solubles totales e índice de maduración entre el tratamiento SA 3 mM y el control (Tabla 6.7). El tratamiento CHS 0.25 % no presentó alteración en las propiedades organolépticas de la fruta.

Tabla 6.7 Variables de calidad del fruto tratamientos pos-cosecha.

Tratamiento	Variable		
	ATT (% ácido cítrico)	SST (°Brix)	Índice de maduración
SA 3 mM	0.65 ± 0.019 a	12.43 ± 0.98 a	19.70 ± 0.58 a
CHS 0.25%	0.90 ± 0.034 b	10.70 ± 0.64 b	12.42 ± 0.49 b
CONTROL	0.87 ± 0.056 b	10.20 ± 0.72 b	12.60 ± 0.90 b

Datos expresados como medias ± SEM, $\alpha=0.05$.

Letras diferentes indican diferencia significativa entre columnas.

El tratamiento SA 3 mM aumentó el contenido de sólidos solubles totales y disminuyó el contenido de acidez total titulable lo que indica un mayor índice de maduración. La tendencia de estos resultados indicarían una apreciación más dulce por parte del consumidor, sin embargo el tratamiento no logró mantener el índice de comercialización requerido. El contenido de azúcares puede influir en la estabilidad de ciertos compuestos como las antocianinas y su degradación en el fruto (Edgley et al., 2019).

6.2.3 Actividad enzimática

La actividad SOD se redujo con el tratamiento CHS 0.25 % y se mantuvo con SA 3 mM. La actividad CAT se mantuvo con SA 3 mM y aumentó significativamente con CHS 0.25 %. La actividad PAL mostró una disminución con SA 3 mM y se mantuvo con CHS 0.25 % (Tabla 6.8).

Tabla 6.8 Actividad enzimática tratamientos pos-cosecha.

Tratamiento	Actividad enzimática (U/ mg de proteína)		
	SOD	CAT	PAL
CONTROL	21.36 ± 1.78 a	40.47 ± 1.10 a	2.39 ± 0.12 a
SA 3 mM	18.65 ± 2.34 a	40.11 ± 0.89 a	0.90 ± 0.19 b
CHS 0.25%	9.82 ± 0.84 b	98.64 ± 2.54 b	2.64 ± 0.18 a

Prueba HSD Tukey-Kramer, $n=3$, $\alpha=0.05$.

Letras diferentes indican diferencia significativa entre columnas.

Esta reducción en la actividad PAL podría estar relacionada a la disminución del contenido de ácidos orgánicos en la fruta. De manera natural el contenido de azúcares solubles aumenta y el de ácidos orgánicos disminuye conforme la fruta avanza en la maduración, los resultados nos indican que el tratamiento 3 mM tuvo un efecto de aceleración en el proceso de maduración del fruto de zarzamora.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

7 Conclusión

- La aplicación de tratamientos de quitosano 0.25% y ácido salicílico 3 mM en periodos pre-cosecha mejoró la vida de anaquel de la zarzamora debido a su acción sobre la actividad enzimática, el metabolismo relacionado a la maduración y resistencia del fruto a factores de deterioro en contraste con un grupo control.

Resumen de resultados

- La aplicación de tratamientos pre-cosecha en etapas tempranas de maduración mostraron potencial para aumentar la firmeza de la zarzamora.
- Los tratamientos pre-cosecha fueron más efectivos que los tratamientos pos-cosecha para preservar el índice de comercialización de la zarzamora por más tiempo.
- Los tratamientos pre-cosecha no presentaron efectos negativos en las variables de calidad evaluadas.
- Los tratamientos pre-cosecha disminuyeron la actividad de la enzima poliglacturonasa en el fruto de zarzamora.
- El tratamiento pos-cosecha SA 3 mM mejoró las características organolépticas del fruto de zarzamora.
- Los resultados más efectivos para mejorar la vida de anaquel se presentaron con tratamientos pre-cosecha al realizar las recolecciones 5 horas posteriores a la aplicación.
- Los tratamientos son compatibles con los métodos de producción actual y económicamente viables (Tabla 9.1 y Tabla 9.2) para su integración en las prácticas de manejo de la zarzamora.

8 Referencias

- Abeles, F. B. and Biles, C. L. (1991). Cellulase activity in developing apple fruits. *Scientia Horticulturae*, 47(1-2):77–87.
- Aebi, H. (1984). [13] catalase in vitro. In *Methods in enzymology*, volume 105, pages 121–126. Elsevier.
- Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry. *LWT-food science and technology*, 43(6):837–842.
- Almenar, E., Samsudin, H., Auras, R., Harte, B., and Rubino, M. (2008). Post-harvest shelf life extension of blueberries using a biodegradable package. *Food Chemistry*, 110(1):120–127.
- Asghari, M. and Aghdam, M. S. (2010). Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural crops. *Trends in Food Science & Technology*, 21(10):502–509.
- Baenas, N., García-Viguera, C., and Moreno, D. (2014). Elicitation: a tool for enriching the bioactive composition of foods. *Molecules*, 19(9):13541–13563.
- Baldwin, E., Burns, J., Kazokas, W., Brecht, J., Hagenmaier, R., Bender, R., and Pesis, E. (1999). Effect of two edible coatings with different permeability characteristics on mango (*mangifera indica* l.) ripening during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 17(3):215–226.
- Baldwin, E. A. (2016). The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks. In *Agriculture Handbook Number 66. The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*, page 133. USDA.
- Bargel, H., Koch, K., Cerman, Z., and Neinhuis, C. (2006). Evans review no. 3: Structure–function relationships of the plant cuticle and cuticular waxes—a smart material? *Functional Plant Biology*, 33(10):893–910.
- Barikloo, H. and Ahmadi, E. (2018). Shelf life extension of strawberry by temperatures conditioning, chitosan coating, modified atmosphere, and clay and silica nanocomposite packaging. *Scientia horticulturae*, 240:496–508.
- Bautista Baños, S., Hernández López, M., and Bosquez Molina, E. (2004). Growth inhibition of selected fungi by chitosan and plant extracts. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 22(2).

- Beauchamp, C. and Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*, 44(1):276–287.
- Benichou, M., Ayour, J., Sagar, M., Alahyane, A., Elateri, I., and Aitoubahou, A. (2018). Postharvest technologies for shelf life enhancement of temperate fruits. In *Postharvest Biology and Technology of Temperate Fruits*, pages 77–100. Springer.
- Bhat, N. (2012). Postharvest storage systems: Biology, physical factors, storage, and transport. In *Handbook of Fruits and Fruit Processing*, pages 87–97. Wiley-Blackwell.
- Braccini, I. and Pérez, S. (2001). Molecular basis of Ca^{2+} -induced gelation in alginates and pectins: the egg-box model revisited. *Biomacromolecules*, 2(4):1089–1096.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2):248–254.
- Brummell, D. A., Dal Cin, V., Crisosto, C. H., and Labavitch, J. M. (2004). Cell wall metabolism during maturation, ripening and senescence of peach fruit. *Journal of experimental botany*, 55(405):2029–2039.
- Bule, M. V., Desai, K. M., Parisi, B., Parulekar, S. J., Slade, P., Singhal, R. S., and Rodriguez, A. (2010). Furan formation during uv-treatment of fruit juices. *Food Chemistry*, 122(4):937–942.
- Butot, S., Cantergiani, F., Moser, M., Jean, J., Lima, A., Michot, L., Putallaz, T., Stroheker, T., and Zuber, S. (2018). Uv-c inactivation of foodborne bacterial and viral pathogens and surrogates on fresh and frozen berries. *International journal of food microbiology*, 275:8–16.
- Chávez-Bárceñas, A. T., Alonso-Ojeda, C., and García-Saucedo, P. A. (2012). Proteómica de la maduración de frutos de zarzamora (*rubus* sp.) cultivados en México, una primera aproximación. *Ra Ximhai*, 8(3).
- Choo, W. S. (2019). Fruit pigment changes during ripening.
- Clark, J. R. and Perkins-Veazie, P. (2011). ‘apf-45’ primocane-fruiting blackberry. *HortScience*, 46(4):670–673.
- Clark, J. R., Stafne, E. T., Hall, H. K., and Finn, C. E. (2007). Blackberry breeding and genetics. *Plant breeding reviews*, 29:19.
- Cocuron, J.-C., Casas, M. I., Yang, F., Grotewold, E., and Alonso, A. P. (2018). Beyond the wall: High-throughput quantification of plant soluble and cell-wall bound phenolics by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*.
- Cutter, C. N. (2006). Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods. *Meat science*, 74(1):131–142.

- De la Vega, J. C., Cañarejo, M. A., and Pinto, N. S. (2017). Avances en tecnología de atmósferas controladas y sus aplicaciones en la industria. una revisión. *Información tecnológica*, 28(3):75–86.
- Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., et al. (2012). The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology*, 13(4):414–430.
- DEAQ (2018). Diccionario de especialidades agroquímicas, 18ª edición. *Ediciones PLM*.
- Dickerson, D., Pascholati, S., Hagerman, A. E., Butler, L., and Nicholson, R. (1984). Phenylalanine ammonia-lyase and hydroxycinnamate: Coa ligase in maize mesocotyls inoculated with *helminthosporium maydis* or *helminthosporium carbonum*. *Physiological plant pathology*, 25(2):111–123.
- Ding, M., Feng, R., Wang, S. Y., Bowman, L., Lu, Y., Qian, Y., Castranova, V., Jiang, B.-H., and Shi, X. (2006). Cyanidin-3-glucoside, a natural product derived from blackberry, exhibits chemopreventive and chemotherapeutic activity. *Journal of Biological Chemistry*, 281(25):17359–17368.
- Dixon, R. A. and Paiva, N. L. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The plant cell*, 7(7):1085.
- Drevinskas, T., Naujokaitytė, G., Maruška, A., Kaya, M., Sargin, I., Daubaras, R., and Česonienė, L. (2017). Effect of molecular weight of chitosan on the shelf life and other quality parameters of three different cultivars of actinidia kolomikta (kiwifruit). *Carbohydrate polymers*, 173:269–275.
- Durrant, W. E. and Dong, X. (2004). Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 42:185–209.
- Edgley, M., Close, D., Measham, P., and Nichols, D. (2019). Physiochemistry of blackberries (*rubus* l. subgenus *rubus watson*) affected by red drupelet reversion. *Postharvest Biology and Technology*, 153:183–190.
- Eichholz, I., Huyskens-Keil, S., Keller, A., Ulrich, D., Kroh, L. W., and Rohn, S. (2011). Uv-b-induced changes of volatile metabolites and phenolic compounds in blueberries (*vaccinium corymbosum* l.). *Food Chemistry*, 126(1):60–64.
- Eshghi, S., Hashemi, M., Mohammadi, A., Badii, F., Mohammadhoseini, Z., and Ahmadi, K. (2014). Effect of nanochitosan-based coating with and without copper loaded on physicochemical and bioactive components of fresh strawberry fruit (*fragaria x ananassa duchesne*) during storage. *Food and bioprocess technology*, 7(8):2397–2409.
- Fernandez-Jaramillo, A. A., Duarte-Galvan, C., Garcia-Mier, L., Jimenez-Garcia, S. N., and Contreras-Medina, L. M. (2018). Effects of acoustic waves on plants: An agricultural, ecological, molecular and biochemical perspective. *Scientia Horticulturae*, 235:340–348.

- Fillinger, S. and Elad, Y. (2016). *Botrytis: the fungus, the pathogen and its management in agricultural systems*. Springer.
- Gallegos-Acuña, H. (2017). Bioregenerador de suelo. *Patente WO 2017/209593 A1*. <https://patents.google.com/patent/WO2017209593A1/es?q=WO+2017%2f209593+A1>.
- Garg, N. and Manchanda, G. (2009). Ros generation in plants: boon or bane? *Plant Biosystems*, 143(1):81–96.
- Goodenough, P., Prosser, I., and Young, K. (1985). NADP-linked malic enzyme and malate metabolism in ageing tomato fruit. *Phytochemistry*, 24(6):1157–1162.
- Grande-Tovar, C. D., Chaves-Lopez, C., Serio, A., Rossi, C., and Paparella, A. (2018). Chitosan coatings enriched with essential oils: Effects on fungi involved in fruit decay and mechanisms of action. *Trends in Food Science & Technology*, 78:61–71.
- Gunata, Y., Bayonove, C., Baumes, R., and Cordonnier, R. (1985). The aroma of grapes i. extraction and determination of free and glycosidically bound fractions of some grape aroma components. *Journal of Chromatography A*, 331:83–90.
- Hall, H. K. and Funt, R. C. (2017). *Blackberries and their Hybrids. Crop Production Science in Horticulture*, volume 27. CABI.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, USA.
- Haslam, E. (1988). Plant polyphenols (syn. vegetable tannins) and chemical defense—a reappraisal. *Journal of Chemical Ecology*, 14(10):1789–1805.
- Heap, R. (2006). Cold chain performance issues now and in the future. *Bulletin of the IIR*, 4.
- Hernández-Muñoz, P., Almenar, E., Ocio, M. J., and Gavara, R. (2006). Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of strawberries (*fragaria x ananassa*). *Postharvest Biology and Technology*, 39(3):247–253.
- Hiwasa-Tanase, K., Ezura, H., et al. (2014). Climacteric and non-climacteric ripening. *Fruit Ripening, Physiology, Signalling and Genomics*, pages 1–14.
- Horvitz, S. (2017). Postharvest handling of berries. *Postharvest handling*, pages 107–123.
- Horvitz, S., Chanaguano, D., and Arozarena, I. (2017). Andean blackberries (*rubus glaucus benth*) quality as affected by harvest maturity and storage conditions. *Scientia Horticulturae*, 226:293–301.
- Huang, X.-M., Huang, H.-B., and Wang, H.-C. (2005). Cell walls of loosening skin in post-veraison grape berries lose structural polysaccharides and calcium while accumulate structural proteins. *Scientia horticulturae*, 104(3):249–263.

- Iqbal, K., Khan, A., and Khattak, M. (2004). Biological significance of ascorbic acid (vitamin c) in human health-a review. *Pakistan Journal of Nutrition*, 3(1):5–13.
- Jimenez-Garcia, S. N., Guevara-Gonzalez, R. G., Miranda-Lopez, R., Feregrino-Perez, A. A., Torres-Pacheco, I., and Vazquez-Cruz, M. A. (2013). Functional properties and quality characteristics of bioactive compounds in berries: Biochemistry, biotechnology, and genomics. *Food Research International*, 54(1):1195–1207.
- Junqueira-Gonçalves, M. P., Alarcón, E., and 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.
- Kader, A. A. (2002). *Postharvest technology of horticultural crops*, volume 3311. University of California Agriculture and Natural Resources.
- Kessmann, H., Staub, T., Ligon, J., Oostendorp, M., and Ryals, J. (1994). Activation of systemic acquired disease resistance in plants. *European Journal of Plant Pathology*, 100(6):359–369.
- Kim, M. J., Perkins-Veazie, P., Ma, G., and Fernandez, G. (2015). Shelf life and changes in phenolic compounds of organically grown blackberries during refrigerated storage. *Postharvest Biology and Technology*, 110:257–263.
- Kyriacou, M. C. and Roupael, Y. (2018). Towards a new definition of quality for fresh fruits and vegetables. *Scientia Horticulturae*, 234:463–469.
- Leslie, J. F. and Summerell, B. A. (2008). *The Fusarium laboratory manual*. John Wiley & Sons.
- Lewis, N. G. and Yamamoto, E. (1990). Lignin: occurrence, biogenesis and biodegradation. *Annual review of plant biology*, 41(1):455–496.
- Li, K.-T. (2012). Physiology and classification of fruits. *Handbook of fruits and fruit processing*, pages 1–12.
- Li, M., Yu, M., Zhang, Z., Liu, Z., and Pan, Y. (2012). Control of black spot disease caused by *alternaria alternata* on jujube (*ziziphus jujuba* mill. cv. dongzao) using harpinxoo protein. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 87(3):250–254.
- Lin, W., Hu, X., Zhang, W., Rogers, W. J., and Cai, W. (2005). Hydrogen peroxide mediates defence responses induced by chitosans of different molecular weights in rice. *Journal of Plant Physiology*, 162(8):937–944.
- Lo'ay, A. (2017). Preharvest salicylic acid and delay ripening of 'superior seedless' grapes. *Egyptian journal of basic and applied sciences*, 4(3):227–230.
- Lopez-Rubio, A., Almenar, E., Hernandez-Muñoz, P., Lagarón, J. M., Catalá, R., and Gavara, R. (2004). Overview of active polymer-based packaging technologies for food applications. *Food Reviews International*, 20(4):357–387.

- Lo'ay, A. and El-Boray, M. (2018). Improving fruit cluster quality attributes of 'flame seedless' grapes using preharvest application of ascorbic and salicylic acid. *Scientia Horticulturae*, 233:339–348.
- Lu, X., Sun, D., Li, Y., Shi, W., and Sun, G. (2011). Pre-and post-harvest salicylic acid treatments alleviate internal browning and maintain quality of winter pineapple fruit. *Scientia Horticulturae*, 130(1):97–101.
- Lucini, L., Baccolo, G., Roupael, Y., Colla, G., Bavaresco, L., and Trevisan, M. (2018). Chitosan treatment elicited defence mechanisms, pentacyclic triterpenoids and stilbene accumulation in grape (*vitis vinifera* l.) bunches. *Phytochemistry*, 156:1–8.
- Ma, L.-J., Geiser, D. M., Proctor, R. H., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Trail, F., Gardiner, D. M., Manners, J. M., and Kazan, K. (2013). Fusarium pathogenomics. *Annual review of microbiology*, 67:399–416.
- Manning, K. (1998). Isolation of a set of ripening-related genes from strawberry: their identification and possible relationship to fruit quality traits. *Planta*, 205(4):622–631.
- Mannozi, C., Tylewicz, U., Chinnici, F., Siroli, L., Rocculi, P., Dalla Rosa, M., and Romani, S. (2018). Effects of chitosan based coatings enriched with procyanidin by-product on quality of fresh blueberries during storage. *Food chemistry*, 251:18–24.
- Martillanes, S., Rocha-Pimienta, J., Cabrera-Bañegil, M., Martín-Vertedor, D., and Delgado-Adámez, J. (2017). Application of phenolic compounds for food preservation: Food additive and active packaging. In *Phenolic Compounds-Biological Activity*. InTech.
- Martínez-Ballesta, M. C., López-Pérez, L., Hernández, M., López-Berenguer, C., Fernández-García, N., and Carvajal, M. (2008). Agricultural practices for enhanced human health. *Phytochemistry Reviews*, 7(2):251–260.
- Masoodi, K. Z., Mir, S., Wani, S. H., Shah, F., Balkhi, M. B., and Zargar, S. M. (2018). Genetic modification in fruits and vegetables for improved nutritional quality and extended shelf life. In *Preharvest Modulation of Postharvest Fruit and Vegetable Quality*, pages 359–379. Elsevier.
- Mikulic-Petkovsek, M., Koron, D., Zorenc, Z., and Veberic, R. (2017). Do optimally ripe blackberries contain the highest levels of metabolites? *Food chemistry*, 215:41–49.
- Mohamed, M. S., Saleh, A. M., Abdel-Farid, I. B., and El-Naggar, S. A. (2017). Growth, hydrolases and ultrastructure of fusarium oxysporum as affected by phenolic rich extracts from several xerophytic plants. *Pesticide biochemistry and physiology*, 141:57–64.

- Mondal, K., Sharma, N., Malhotra, S., Dhawan, K., and Singh, R. (2004). Antioxidant systems in ripening tomato fruits. *Biologia Plantarum*, 48(1):49–53.
- Mookerjee, P., Kramer, S., Josowitz, A., and April, Z.-W. (2009). Antimicrobial compositions. *Patent US 2009/0312279 A1*. <https://patents.google.com/patent/US20090312279?q=US+2009%2f0312279+A1>.
- Moreno, B. M., Rizzolo, R. G., de Moraes Fagundes, C., Bender, A., and Antunes, L. E. C. (2015). Efeito do ácido salicílico na pré-colheita de amora preta cv. tupy. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(2):234–239.
- Moretti, C., Mattos, L., Calbo, A., and Sargent, S. (2010). Climate changes and potential impacts on postharvest quality of fruit and vegetable crops: A review. *Food Research International*, 43(7):1824–1832.
- Muro-Villanueva, F., Mao, X., and Chapple, C. (2019). Linking phenylpropanoid metabolism, lignin deposition, and plant growth inhibition. *Current opinion in biotechnology*, 56:202–208.
- Namdeo, A. et al. (2007). Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review. *Pharmacogn Rev*, 1(1):69–79.
- Neugart, S., Kläring, H.-P., Zietz, M., Schreiner, M., Rohn, S., Kroh, L. W., and Krumbein, A. (2012). The effect of temperature and radiation on flavonol aglycones and flavonol glycosides of kale (brassica oleracea var. sabellica). *Food Chemistry*, 133(4):1456–1465.
- OMRI (2019). Lista de productos OMRI. <https://www.omri.org/es/listas-omri>.
- Oszmiański, J., Nowicka, P., Teleszko, M., Wojdyło, A., Cebulak, T., and Oklejewicz, K. (2015). Analysis of phenolic compounds and antioxidant activity in wild blackberry fruits. *International journal of molecular sciences*, 16(7):14540–14553.
- Padmanabhan, P., Coreea-Betanzo, J., and Paliyath, G. (2016). Berries and related fruits. *Encyclopedia of Food and Health, Reference Module in Food Science*, pages 364–371.
- Pantelidis, G. E., Vasilakakis, M., Manganaris, G. A., and Diamantidis, G. (2007). Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and cornelian cherries. *Food chemistry*, 102(3):777–783.
- Paredes-López, O., Cervantes-Ceja, M. L., Vigna-Pérez, M., and Hernández-Pérez, T. (2010). Berries: improving human health and healthy aging, and promoting quality life—a review. *Plant foods for human nutrition*, 65(3):299–308.
- Pareek, S., Valero, D., and Serrano, M. (2015). Postharvest biology and technology of pomegranate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(12):2360–2379.

- Patzke, H. and Schieber, A. (2018). Growth-inhibitory activity of phenolic compounds applied in an emulsifiable concentrate-ferulic acid as a natural pesticide against botrytis cinerea. *Food Research International*, 113:18–23.
- Paull, R. (1999). Effect of temperature and relative humidity on fresh commodity quality. *Postharvest biology and technology*, 15(3):263–277.
- Pech, J.-C., Purgatto, E., Bouzayen, M., and Latché, A. (2012). Ethylene and fruit ripening. *Annu Plant Rev Plant Horm Ethyl*, 44:275–304.
- Pelletier, W., Brecht, J. K., do Nascimento Nunes, M. C., and Emond, J.-P. (2011). Quality of strawberries shipped by truck from california to florida as influenced by postharvest temperature management practices. *HortTechnology*, 21(4):482–493.
- Peng, L. and Jiang, Y. (2006). Exogenous salicylic acid inhibits browning of fresh-cut chinese water chestnut. *Food Chemistry*, 94(4):535–540.
- Pérez-Barraza, M. and Vázquez-Valdivia, V. (2004). Zarzamora (rubus spp), su cultivo y producción en el trópico mexicano. *INIFAP, CIRPAC*.
- Pérez-Gallardo, A., García-Almendárez, B., Barbosa-Cánovas, G., Pimentel-González, D., Reyes-González, L., and Regalado, C. (2015). Effect of starch-beeswax coatings on quality parameters of blackberries (rubus spp.). *Journal of food science and technology*, 52(9):5601–5610.
- Pérez-Pérez, G., Fabela-Gallegos, M., Vázquez-Barrios, M., Rivera-Pastrana, D., Palma-Tirado, L., Mercado-Silva, E., and Escalona, V. (2016). Effect of the transport vibration on the generation of the color reversion in blackberry fruit. In *VIII International Postharvest Symposium: Enhancing Supply Chain and Consumer Benefits-Ethical and Technological Issues 1194*, pages 1329–1336.
- Perkins-Veazie, P. (2016). The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks. In *Agriculture Handbook Number 66. The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*, page 237. USDA.
- Perkins-Veazie, P. (2017). Postharvest storage and transportation of blackberries. In *Blackberries and their hybrids*, pages 266–281. CAB International.
- Perkins-Veazie, P., Collins, J., and Clark, J. (1999). Shelf-life and quality of ‘navaho’ and ‘shawnee’ blackberry fruit stored under retail storage conditions 1. *Journal of Food Quality*, 22(5):535–544.
- Perkins-Veazie, P., Collins, J. K., and Howard, L. (2008). Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. *Postharvest Biology and Technology*, 47(3):280–285.
- Pichyangkura, R. and Chadchawan, S. (2015). Biostimulant activity of chitosan in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196:49–65.

- Piña-Dumoulin, G., Saucedo, V., and Ayala, E. (2001). Atmósferas controladas para combatir daños postcosecha en zarzamora (*rubus sp.*). [controlled atmospheres to reduce postharvest damage in blackberry (*rubus sp.*)]. *Revista-Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia (Venezuela)*. (Abr-Jun, 18(2):87–105.
- Ramos-Solano, B., Algar, E., Gutierrez-Mañero, F. J., Bonilla, A., Lucas, J. A., and García-Seco, D. (2015). Bacterial bioeffectors delay postharvest fungal growth and modify total phenolics, flavonoids and anthocyanins in blackberries. *LWT-Food Science and Technology*, 61(2):437–443.
- Retsky, K. L. and Frei, B. (1995). Vitamin c prevents metal ion-dependent initiation and propagation of lipid peroxidation in human low-density lipoprotein. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 1257(3):279–287.
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: properties and applications. *Progress in polymer science*, 31(7):603–632.
- Romanazzi, G. and Droby, S. (2016). Control strategies for postharvest grey mould on fruit crops. In *Botrytis—the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems*, pages 217–228. Springer.
- Romanazzi, G., Nigro, F., Ippolito, A., Divenere, D., and Salerno, M. (2002). Effects of pre-and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. *Journal of Food Science*, 67(5):1862–1867.
- Saavedra, G. M., Figueroa, N. E., Poblete, L. A., Cherian, S., and Figueroa, C. R. (2016). Effects of preharvest applications of methyl jasmonate and chitosan on postharvest decay, quality and chemical attributes of fragaria chiloensis fruit. *Food chemistry*, 190:448–453.
- Saba, M. K. and Moradi, S. (2016). Internal browning disorder of eight pear cultivars affected by bioactive constituents and enzyme activity. *Food chemistry*, 205:257–263.
- SAGARPA (2016). Planeación agrícola nacional 2017-2030.
- Saibi, W. and Brini, F. (2018). Superoxide dismutase (sod) and abiotic stress tolerance in plants: An overview. *Superoxide Dismutase: Structure, Synthesis and Applications*; Magliozzi, S., Ed, pages 101–142.
- Sakurai, H., Fukuya, H., and Anzai, F. (2005). Chitosan-containing composition for improving disease resistance and growth of plants. *Patent US 2005/0239657 A1*. <https://patents.google.com/patent/US20050239657A1/en?q=US+2005%2f0239657+A1>.
- Sellappan, S., Akoh, C. C., and Krewer, G. (2002). Phenolic compounds and antioxidant capacity of georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(8):2432–2438.

- Seymour, G. B., Manning, K., Eriksson, E. M., Popovich, A. H., and King, G. J. (2002). Genetic identification and genomic organization of factors affecting fruit texture. *Journal of Experimental Botany*, 53(377):2065–2071.
- Shafiee, M., Taghavi, T., and Babalar, M. (2010). Addition of salicylic acid to nutrient solution combined with postharvest treatments (hot water, salicylic acid, and calcium dipping) improved postharvest fruit quality of strawberry. *Scientia horticulturae*, 124(1):40–45.
- Shen, Y. and 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.
- Shendye, A.-P. (2009). Chitosan derivative formulations for plant growth, and building disease resistance. *Patent WO 2018/042311 A1*. <https://patents.google.com/patent/WO2018042311A1/en?q=WO+2018%2f042311+A1>.
- Shi, Z., Wang, F., Lu, Y., and Deng, J. (2018). Combination of chitosan and salicylic acid to control postharvest green mold caused by penicillium digitatum in grapefruit fruit. *Scientia horticulturae*, 233:54–60.
- Silva Júnior, S., Stamford, N., Lima, M., Arnaud, T., Pintado, M., and Sarmiento, B. (2014). Characterization and inhibitory activity of chitosan on hyphae growth and morphology of botrytis cinerea plant pathogen. *International Journal of Applied Research in Natural Products*, 7(4):31–38.
- Singh, R. P. and Anderson, B. (2004). The major types of food spoilage: an overview. *Understanding and Measuring the Shelf-life of Food*, pages 3–23.
- Sousa-Gallagher, M., Tank, A., and Sousa, R. (2016a). Emerging technologies to extend the shelf life and stability of fruits and vegetables. In *The Stability and Shelf Life of Food*, pages 399–430. Elsevier.
- Sousa-Gallagher, M., Tank, A., and Sousa, R. (2016b). The stability and shelf life of food.
- Sudhakar, P., Latha, P., and Reddy, P. (2016). *Phenotyping crop plants for physiological and biochemical traits*. Academic Press.
- Sun, J.-H., Luo, J.-J., Tian, L., Li, C.-L., Xing, Y., and Shen, Y.-Y. (2013). New evidence for the role of ethylene in strawberry fruit ripening. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32(3):461–470.
- Sun, X., Narciso, J., Wang, Z., Ference, C., Bai, J., and Zhou, K. (2014). Effects of chitosan-essential oil coatings on safety and quality of fresh blueberries. *Journal of food science*, 79(5):M955–M960.
- Szajdek, A. and Borowska, E. (2008). Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: a review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63(4):147–156.

- Taiz, L. and Zeiger, E. (2006). Plant physiology sinauer associates. *Inc., Sunderland, MA.*
- Tavares, L., Figueira, I., McDougall, G. J., Vieira, H. L., Stewart, D., Alves, P. M., Ferreira, R. B., and Santos, C. N. (2013). Neuroprotective effects of digested polyphenols from wild blackberry species. *European Journal of Nutrition*, 52(1):225–236.
- Tezotto-Uliana, J. V., Fargoni, G. P., Geerdink, G. M., and Kluge, R. A. (2014). Chitosan applications pre-or postharvest prolong raspberry shelf-life quality. *Postharvest Biology and Technology*, 91:72–77.
- Tice, P. (2003). *Packaging Materials: Polyethylene for Food Packaging Applications.* ILSI Europe.
- Tripathi, P. and Dubey, N. (2004). Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. *Postharvest biology and Technology*, 32(3):235–245.
- Tucker, G. (1993). Introduction en seymour gb, taylor je and tucker ga (eds.) biochemistry of fruit ripening. 1–52.
- Tyagi, S., Sahay, S., Imran, M., Rashmi, K., and Mahesh, S. S. (2017). Pre-harvest factors influencing the postharvest quality of fruits: A review. *Current Journal of Applied Science and Technology*, pages 1–12.
- VALAGRO (2009). ComposiÇão agroquímica, método para a sua produÇão e suas utilizaÇões no tratamento de culturas. *Patent PT 2320730 E.* <https://patents.google.com/patent/PT2320730E/pt?q=PT+2320730+E+>.
- van Loon, L. C., Rep, M., and Pieterse, C. M. (2006). Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 44:135–162.
- Vasiljevich, N. K., Leonidovich, T. S., Sergeevich, J. M., and Stanislav, T. A. (2002). Composition comprising chitosan for enhancing resistance to plant diseases. *Patent US US 6,413,910 B1.* <https://patents.google.com/patent/US6413910B1/en?q=US+6%2c413%2c910+B1>.
- Vázquez-Hernández, M., Parola-Contreras, I., Montoya-Gómez, L., Torres-Pacheco, I., Schwarz, D., and Guevara-González, R. (2019). Eustressors: Chemical and physical stress factors used to enhance vegetables production. *Scientia Horticulturae*, 250:223–229.
- Veazie, P. P. and Collins, J. (2002). Quality of erect-type blackberry fruit after short intervals of controlled atmosphere storage. *Postharvest biology and Technology*, 25(2):235–239.
- Villanueva-Fernández, J. (2011). Formulation and method for activating genes that regulate natural interactions between plants and the environment. *Patent WO 2012/142720 A2.* <https://patents.google.com/patent/WO2012142720A2/en?q=WO+2012%2f142720+A2>.

- Wakabayashi, K., Chun, J.-P., and Huber, D. J. (2000). Extensive solubilization and depolymerization of cell wall polysaccharides during avocado (*perseaamericana*) ripening involves concerted action of polygalacturonase and pectinmethylesterase. *Physiologia Plantarum*, 108(4):345–352.
- Wang, B., Wang, J., Feng, X., Lin, L., Zhao, Y., and Jiang, W. (2009). Effects of 1-mcp and exogenous ethylene on fruit ripening and antioxidants in stored mango. *Plant Growth Regulation*, 57(2):185.
- Wang, L., Wang, L., Zhang, Z., Ma, M., Wang, R., Qian, M., and Zhang, S. (2018a). Genome-wide identification and comparative analysis of the superoxide dismutase gene family in pear and their functions during fruit ripening. *Postharvest biology and technology*, 143:68–77.
- Wang, T.-y., Li, Q., and Bi, K.-s. (2018b). Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(1):12–23.
- Weiberg, A., Wang, M., Lin, F.-M., Zhao, H., Zhang, Z., Kaloshian, I., Huang, H.-D., and Jin, H. (2013). Fungal small rnas suppress plant immunity by hijacking host rna interference pathways. *Science*, 342(6154):118–123.
- White, P. J. and Broadley, M. R. (2003). Calcium in plants. *Annals of botany*, 92(4):487–511.
- Wills, R., McGlasson, B., Graham, D., Joyce, D., and Rushing, J. W. (1999). Post-harvest: an introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals. *Journal of vegetable crop production*, 4(2):83–84.
- Wu, T., Zivanovic, S., Draughon, F. A., Conway, W. S., and Sams, C. E. (2005). Physicochemical properties and bioactivity of fungal chitin and chitosan. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10):3888–3894.
- Xu, D., Deng, Y., Han, T., Jiang, L., Xi, P., Wang, Q., Jiang, Z., and Gao, L. (2018). In vitro and in vivo effectiveness of phenolic compounds for the control of postharvest gray mold of table grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 139:106–114.
- Xu, F., Wang, S., Xu, J., Liu, S., and Li, G. (2016). Effects of combined aqueous chlorine dioxide and uv-c on shelf-life quality of blueberries. *Postharvest Biology and Technology*, 117:125–131.
- Yahia, E. M. (2011). *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits: fundamental issues*. Elsevier.
- Yahia, E. M., Fadanelli, L., Mattè, P., and Brecht, J. K. (2019). Chapter 13 - controlled atmosphere storage. In Yahia, E. M., editor, *Postharvest Technology of Perishable Horticultural Commodities*, pages 439 – 479. Woodhead Publishing.
- Yin, H., Zhao, X., and Du, Y. (2010). Oligochitosan: a plant diseases vaccine—a review. *Carbohydrate Polymers*, 82(1):1–8.

- Zhang, C., Xiong, Z., Yang, H., and Wu, W. (2019a). Changes in pericarp morphology, physiology and cell wall composition account for flesh firmness during the ripening of blackberry (*rubus* spp.) fruit. *Scientia Horticulturae*, 250:59–68.
- Zhang, D. and Quantick, P. C. (1998). Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 73(6):763–767.
- Zhang, W., Zhao, H., Zhang, J., Sheng, Z., Cao, J., and Jiang, W. (2019b). Different molecular weights chitosan coatings delay the senescence of postharvest nectarine fruit in relation to changes of redox state and respiratory pathway metabolism. *Food chemistry*, 289:160–168.
- Zhang, Y., Zhang, M., and Yang, H. (2015). Postharvest chitosan-g-salicylic acid application alleviates chilling injury and preserves cucumber fruit quality during cold storage. *Food chemistry*, 174:558–563.
- Zhao, J., Davis, L. C., and Verpoorte, R. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology advances*, 23(4):283–333.
- Złotek, U., Świeca, M., and Jakubczyk, A. (2014). Effect of abiotic elicitation on main health-promoting compounds, antioxidant activity and commercial quality of butter lettuce (*lactuca sativa* l.). *Food chemistry*, 148:253–260.

9 Anexos

9.1 Buenas prácticas de laboratorio

La OCDE determina que las buenas prácticas de laboratorio (BPL) constituyen un sistema de garantía de calidad relativo al modo de organización de los estudios de seguridad no clínicos referentes a la salud y al medio ambiente y, asimismo, acerca de las condiciones en que estos estudios se planifican, se ejecutan, se controlan, se registran, se archivan y se difunden (OCDE,1997). Los principios de las BPL se consideran como un conjunto de lineamientos para asegurar la calidad, confiabilidad e integridad de los estudios, reportando conclusiones verificables y trazabilidad de los datos. Algunos sistemas de prueba utilizados pueden consistir en ecosistemas complejos que pueden ser difíciles de caracterizar, identificar o documentar. Estos sistemas deben ser descritos por ubicación y características, en la medida posible, en el plan de estudio, y las áreas deben estar identificadas en el lote experimental. Las plantas deben documentarse en razón a su fuente, fecha de adquisición, variedad u otras características apropiadas (World Health Organization, 2009). El número de individuos de zarzamora utilizado fue el estrictamente necesario, para obtener la información robusta y confiable de acuerdo al diseño experimental propuesto.

Recursos Humanos: Para el desarrollo del proyecto se contó con la participación del alumno Joel Ernesto Martínez Camacho bajo la dirección del Dr. Irineo Torres Pacheco y el apoyo del Dr. Ramón Gerardo Guevara González, Dr. Enrique Rico García e integrantes del cuerpo académico de la Facultad de Ingeniería, Campus Amazcala. Además del apoyo de personal auxiliar de campo, a quienes se les informó debidamente acerca de la utilidad, alcances y, en caso de existir, posibles riesgos del proyecto.

9.2 Perspectivas

Los resultados de la investigación indican una clara tendencia de los tratamientos de SA y CHS a mejorar la vida de anaquel de la zarzamora durante su almacenamiento bajo las condiciones del experimento. Las tecnologías y métodos que se pueden emplear para alargar su vida de anaquel están claramente limitadas por sus características y propiedades biomecánicas. La propuesta es utilizar métodos cosecha que requieran una menor intervención, que sean compatibles con los métodos de producción, accesibles en costo y disponibilidad. Con base en los resultados de la investigación se propone realizar estudios sobre el efecto acumulativo y de hormesis en las variables y en la actividad enzimática del fruto en el tiempo. Así mismo se propone realizar un análisis de especies reactivas de oxígeno presentes en el fruto para dar mayor claridad respecto a la protección contra el estrés oxidativo. A partir de los resultados se puede inferir que la reversión además de ser una variable importante de calidad durante la comercialización, podría influir directamente sobre la vida de anaquel del fruto de zarzamora. Se propone profundizar en la investigación de dicha correlación. Las variables organolépticas evaluadas en esta investigación se refieren a cualidades elementales de composición en el fruto de zarzamora, las cuales pueden ser apreciadas por el consumidor. Se propone realizar la evaluación de metabolitos secundarios como fenoles totales, flavonoides y antocianinas para describir el efecto de los tratamientos en el contenido de dichos compuestos y explorar posibles aplicaciones farmacéuticas o industriales. Se propone realizar una evaluación de los tratamientos en condiciones de almacenamiento entre 0-4°C y 90-95 % de humedad relativa para describir el efecto de los tratamientos en conjunto con el almacenamiento en frío. Se propone describir el efecto de los tratamientos respecto al daño por vibración en el fruto. Se propone realizar la identificación de los organismos de deterioro presentes en el fruto de zarzamora.

9.3 Productos generados durante la investigación

Solicitud de patente



MX/E/2020/038487

MX/a/2020/007553

DIRECCIÓN DIVISIONAL DE PATENTES.
SUBDIRECCIÓN DIVISIONAL DE PROCESAMIENTO ADMINISTRATIVO DE PATENTES.
COORDINACIÓN DEPARTAMENTAL DE RECEPCIÓN Y CONTROL DE DOCUMENTOS.

EXPEDIENTE: MX/a/2020/007553
FOLIO DE RECEPCIÓN: MX/E/2020/038487
IDENTIFICADOR DE LA SOLICITUD: 35635
LUGAR, FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN DE LA SOLICITUD:
 CIUDAD DE MÉXICO 15/07/2020 11:04:57

ACUSE DE RECIBO DE LA SOLICITUD DE:

Patente

SOLICITANTE(S)

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

REPRESENTANTE LEGAL:

Arturo GARCIA RAMIREZ

DOCUMENTOS DE LA SOLICITUD:

DOCUMENTO	NOMBRE ARCHIVO	TAMAÑO	HOJA(S)
SOLICITUD	Solicitud_000035635_15_07_2020.pdf	430.71 KB	4
COMPROBANTE DE PAGO	Pago.pdf	24.24 KB	1
HOJA DE DESCUENTO	HOJA DE DESCUENTO.pdf	25.24 KB	1
CONSTANCIA RGP	RGP Arturo.pdf	111.97 KB	2
MEMORIA_TECNICA	REGULADOR DE CRECIMIENTO VEGETAL A BASE DE QUITOSANO PARA PROLONGAR LA VIDA DE ANAQUEL EN FRUTOS DE ZARZAMORA.pdf	252.27 KB	13
OTROS	CARTA_CESION_DERECHOS_ITP.pdf	79.14 KB	1
OTROS	CARTA_CESION_DERECHOS_JEMC.pdf	625.69 KB	1
OTROS	CARTA_CESION_DERECHOS_RGGG.pdf	69.85 KB	1

TOTAL DE HOJAS: 24 (No se incluyen hoja(s) del acuse)

Bajo protesta de decir verdad declaró, que se encuentra en el supuesto con respecto al beneficio señalado en la Cuarta Disposición General de la Tarifa por los servicios que presta este Instituto, por lo que solicitó el 50% de descuento de la tarifa establecida, para los artículos que aplique dicho descuento. Se hace la presente declaración en cumplimiento de dicha disposición, según el acuerdo por el que se da a conocer la tarifa por los servicios que presta el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial, publicado en el Diario Oficial de la Federación con fecha 23 de agosto de 1995.

Los documentos adjuntos están sujetos al estudio correspondiente que el Instituto realice de conformidad con la Ley de la Propiedad Industrial y su Reglamento.

La presente solicitud se recibe en términos del Acuerdo por el que se establecen lineamientos en materia de servicios electrónicos del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial, en los trámites que se indican; por lo tanto, previo a su presentación, el usuario aceptó lo siguiente:

- I.- Que el trámite se efectúe, desde su inicio hasta su conclusión, a través de medios de comunicación electrónica;
- II.- Bajo protesta de decir verdad, que revisó en la vista previa la información capturada y los anexos a la solicitud y que éstos son correctos; así mismo que, una vez concluido el proceso, no podría editar o variar la información o sus anexos;
- III.- Bajo protesta de decir verdad, indicó que la información capturada es cierta;
- IV.- Consultar su tablero, al menos, los días quince y último de cada mes, o bien, el día hábil siguiente si alguno de éstos fuere inhábil y que, en caso de no hacerlo, la notificación se tendría por hecha el día hábil siguiente a los días quince y último de cada mes, y
- V.- Dar aviso por escrito, a través del correo electrónico buzon@impi.gob.mx, a la Dirección Divisonal de Patentes, dentro de los tres días hábiles siguientes a aquel en que se vea imposibilitado, por causas imputables al Instituto, a consultar el tablero o abrir los archivos depositados en el mismo, en los días señalados en la fracción IV anterior.

A efecto de que los documentos presentados a través del Sistema de Patentes en Línea, produzcan los mismos efectos que los documentos firmados autógrafamente y tengan el mismo valor probatorio, manifiestó bajo protesta de decir verdad, que los documentos son copia íntegra e inalterada del documento impreso; que se encuentren digitalizados en formato PDF (Portable Document Format), y que los remitió de forma legible.

Arenal #550, Pueblo Santa María Tepepan, Xochimilco, 16020, Ciudad de México.
 (55) 53340700 - www.gob.mx/impi

REPRESENTACIÓN DE LA SOLICITUD DE REGISTRO DE PATENTE ENVIADA A TRAVÉS DEL PORTAL DE ACCESO A SERVICIOS ELECTRÓNICOS (PASE).

Homoclave del formato	Folio
IMPI-00-009	Folio: MX/E/2020/038487

Fecha de publicación en el DOF	Fecha de solicitud del trámite
24 05 2018	15 07 2020

Datos generales de la solicitud

<input checked="" type="radio"/> Solicitud de Patente Normal <input type="radio"/> Solicitud de Registro de Modelo de Utilidad <input type="radio"/> Solicitud de Registro de Diseño Industrial Especifique cual: <input type="radio"/> Modelo Industrial <input type="radio"/> Dibujo Industrial	Expediente: MX/a/2020/007553 ID Solicitud: 35635 Fecha: 15/07/2020 11:04:57
--	---

Datos del (de los) solicitante(s)

Personas físicas	Personas morales
CURP:	RFC: UAQ510111MQ9
Nombre(s):	Denominación o razón social: UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
Primer apellido:	Nacionalidad: MÉXICO
Segundo apellido:	Teléfono (Lada, Número, Extensión): 4421921200, Ext. 42420
Nacionalidad:	Correo electrónico: mago.hernandez@uaq.edu.mx
Teléfono (Lada, Número, Extensión):	<input checked="" type="radio"/> Continúa en anexo
Correo electrónico:	<input type="radio"/> Continúa en anexo

gob mx	
Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial	
Domicilio del (de los) solicitante(s)	
Código postal: 76010	
Calle: CERRO DE LAS CAMPANAS	
Número exterior: S/N	Número interior:
Colonia: LAS CAMPANAS	
Municipio o delegación: QUERÉTARO	Localidad:
Estado o entidad federativa: QUERÉTARO	Entre calles:
País: MÉXICO	

Datos del (de los) inventor(es) /diseñador(es)	
CURP: MACJ871204HDFRML06	
Nombre(s): Joel Ernesto	
Primer apellido: MARTÍNEZ	
Segundo apellido: CAMACHO	
Nacionalidad: MÉXICO	
Teléfono (Lada, Número, Extensión): 4421921200, Ext. 42420	
Correo electrónico: qajoelmartinez@gmail.com	<input checked="" type="radio"/> Continúa en anexo

Domicilio del (de los) inventor(es)/diseñador(es)	
Código postal: 76903	
Calle: JOSÉ MARÍA VERTIZ	
Número exterior: 474	Número interior:
Colonia: LOS CANDILES	
Municipio o delegación: CORREGIDORA	Localidad:
Estado o entidad federativa: QUERÉTARO	Entre calles:
País: MÉXICO	

Observaciones

Bajo protesta de decir verdad, el firmante manifiesta que los datos asentados en esta solicitud son ciertos y que en caso de actuar como mandatario, cuenta con facultades para llevar a cabo el presente trámite.



Cadena Original

ARTURO GARCIA RAMIREZICURPIGARA640415HQTRMR02I RENAPOI15/07/2020 11:04:54|1011792|24| Documento_Firma_Electronica.pdf|2265.95 KB|IK+WLED|CINN|QsY0zTYNL|GnYSwuK4=|000035635|PATENTE|Normal| REGULADOR DE CRECIMIENTO VEGETAL A BASE DE QUITOSANO PARA PROLONGAR LA VIDA DE ANAQUEL EN FRUTOS DE ZARZAMORA|UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO|IMORAL|Joel Ernesto MARTÍNEZ CAMACHO| Arturo GARCIA RAMIREZIGARA640415HQTRMR02I

Sello Digital

HP7cqz/NV0zglF8D3ivoASqxJiw6ZK2yeSyv7YboXs=

Anexo(s)

Hoja anexa a la solicitud ID: 35635

De Fecha: 15/07/2020 11:04:57

Lista Inventores/Diseñadores

Inventor/Diseñador 2

- Nombre: Irineo TORRES PACHECO
- CURP: TOP1540831HMNR00
- Nacionalidad: MÉXICO
- Domicilio: Calle PUERTA REAL, Ext. 5-AB, Int. 73-A, Col. PUERTA REAL, C. P. 76910, Tel. 4421921200, Ext. 42420, E-mail irineo.torres@uaq.mx
- Población, Estado y País: CORREGIDORA, QUERÉTARO, MÉXICO

Inventor/Diseñador 3

- Nombre: Ramón Gerardo GUEVARA GONZÁLEZ
- CURP: GUGR660330HNLVNM03
- Nacionalidad: MÉXICO
- Domicilio: Calle FLOR DE AZAHAR, Ext. 104, Col. QUINTA BUGAMBILIAS, C. P. 38060, Tel. 4421921200, Ext. 42420, E-mail ramon.guevara@uaq.mx
- Población, Estado y País: CELAYA, GUANAJUATO, MÉXICO

Número de Páginas Manifestadas

- Número de Páginas: 15



Santiago de Querétaro, Querétaro, 6 de julio de 2020

C. Martínez, Joel E.

PRESENTE

Como resultado de los comentarios y revisiones del comité evaluador, nos permitimos informarle que su artículo, detallado a continuación, ha sido **Aceptado con correcciones** para **publicarse** en el número especial de la revista **Perspectivas de la Ciencia y la Ingeniería**. El artículo corregido deberá ser enviado antes del catorce de julio del presente año al correo: perspectivasci@uaq.mx, asimismo, deberá adjuntar una carta de respuesta de formato libre donde describa las cambios principales de su manuscrito y dé respuestas puntuales a los comentarios/sugerencias de los revisores que se detallan en la siguiente página.

Título

Efecto de tratamientos poscosecha con quitosano y ácido salicílico sobre la vida de anaquel, calidad y actividad enzimática de la zarzamora.

Código de registro:

EE4

Autores:

Joel Ernesto, Martínez-Camacho; RamónGerardo, Guevara-González; Rosalía, Ocampo-Velázquez; Enrique, Rico-García; Irineo, Torres-Pacheco*

Le reiteramos nuestro agradecimiento por su participación, y esperamos tener la oportunidad de recibir más colaboraciones suyas.

Atentamente

Oficina editorial de la revista Perspectivas de la Ciencia y la Ingeniería



Congreso Internacional de Ingeniería 2020



Joel E. Martínez <qajoelmartinez@gmail.com>

CONIIN 2020 - Artículo: 5

1 mensaje

CONIIN 2020 <coniin2020@easychair.org>

19 de junio de 2020 a las 21:02

Para: Joel Ernesto Martínez Camacho <qajoelmartinez@gmail.com>

Estimado Joel Ernesto Martínez Camacho,

Su Artículo No.: 5

Titulado: Effect of chitosan and salicylic acid pre-harvest application in enzymatic activity of blackberry (Rubus sp.)

Ha sido ACEPTADO para ser incluido en las MEMORIAS del CONIIN 2020.

Le sugerimos que siga las recomendaciones que los revisores realizaron a su artículo.

De igual manera deseamos informarles que debido a la situación de Contingencia Sanitaria, no tenemos aún fechas definidas para el CONIIN 2020.

Estamos haciendo todo el esfuerzo por llevar a cabo el evento durante este año, siguiendo las recomendaciones que las Autoridades Universitarias y de Salud nos dicten, aun cuando en caso extremo el CONIIN 2020 se lleve a cabo de manera virtual por medio de videoconferencias.

Con suficiente tiempo les haremos llegar la notificación y las instrucciones para que envíen nuevamente sus artículos tomando en cuenta las recomendaciones recibidas por los revisores.

Agradecemos de antemano su paciencia y buena intención de seguir apoyando con sus trabajos las actividades del CONIIN 2020.

Estamos a sus órdenes para cualquier aclaración, reciba un cordial saludo!

"El ingenio para crear, no para destruir"

Dr. Gonzalo Macías Bobadilla
Conference Chair
CONIIN 2020

SUBMISSION: 5

TITLE: Effect of chitosan and salicylic acid pre-harvest application in enzymatic activity of blackberry (Rubus sp.)

----- REVIEW 1 -----

SUBMISSION: 5

TITLE: Effect of chitosan and salicylic acid pre-harvest application in enzymatic activity of blackberry (Rubus sp.)

AUTHORS: Joel Ernesto Martínez Camacho, Noelia Isabel Ferrusquía Jiménez, Irineo Torres Pacheco and Ramón Gerardo Guevara González

----- Overall evaluation -----

SCORE: -3 (strong reject)

--- TEXT:

This manuscript has an interesting introduction. Even the state-of-the-art. However, it lacks an experimental part. It is interesting to see what happened with "Effect of chitosan and salicylic... in blackberry"

----- REVIEW 2 -----

SUBMISSION: 5

TITLE: Effect of chitosan and salicylic acid pre-harvest application in enzymatic activity of blackberry (Rubus sp.)

AUTHORS: Joel Ernesto Martínez Camacho, Noelia Isabel Ferrusquía Jiménez, Irineo Torres Pacheco and Ramón Gerardo Guevara González

----- Overall evaluation -----

SCORE: 3 (strong accept)

Effect of chitosan and salicylic acid pre-harvest application in enzymatic activity of blackberry (*Rubus sp.*)

Martínez-Camacho Joel E., Ferrusquía-Jiménez Noelia I., Guevara-González Ramón G. and Torres-Pacheco Irineo
Facultad de Ingeniería, Campus Amazcala
Universidad Autónoma de Querétaro
El Marqués, Querétaro, México

Abstract— Blackberry (*Rubus sp.*) has been identified as a source of numerous antioxidant compounds. Superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) prevent cell damage caused by reactive oxygen species (ROS). Along with phenylalanine ammonia-lyase (PAL) that is the main regulator for phenolic compound synthesis, and polygalacturonase (PG) that is involved in enzymatic cell wall degradation, they constitute a group of enzymes which activity has been related to senescence and fruit softening process. This work was aimed to identify the effect of two elicitors, salicylic acid (SA) and chitosan (CHS), in blackberry enzymatic activity related to improve fruit conservation. The results showed that pre-harvest application of SA increased SOD, CAT and PAL activities. CHS treatments showed potential effects against oxidative stress. Both SA and CHS applications decreased PG activity. These results suggest that salicylic acid and chitosan modified antioxidant defense responses and cell wall degrading enzyme activity of blackberry fruit, which might play a role in its shelf life and resistance to decay factors.

Keywords—*Rubus sp.*; enzymatic activity; chitosan; salicylic acid.

I. INTRODUCTION

Blackberry (*Rubus sp.*) is widely known for its health benefits that have been attributed to the high levels of bioactive compounds with antioxidant capacity [1]. Blackberry is a highly perishable fruit [2]. As fruits ripen, alteration in metabolism and physical properties leads to changes in the cell wall. The reduction or slowing down in cell wall degradation enzyme activity could enhance physical fruit properties [3]. Antioxidant systems in plants include enzymes like super oxide dismutase (SOD) and catalase (CAT). SOD catalyzes the dismutation of superoxide to hydrogen peroxide and molecular oxygen [4]. CAT is an indispensable enzyme that directly dismutates hydrogen peroxide into water and molecular oxygen in oxygen reactive species (ROS) detoxification during stress conditions [5]. High presence of ROS can be detrimental to fruit quality by causing the oxidation of several components of the cell wall affecting its integrity and inactivating key functions [6]. Phenylalanine ammonia-lyase (PAL) is a key enzyme in the synthesis of phenolic compounds that have been related to defense activities as cell wall reinforcement, repellent and antimicrobial activities [7, 8]. Polygalacturonase (PG) hydrolyzes pectin acid along with the main chain of polygalacturonic acid, causing pectin degradation and cell wall dissolution [9,10]. Fruit softening could agravate the presence of reversion which is

the occurrence of red drupelets in blackberries after harvest, along with leakage and presence of decay symptoms, are the main reasons for market rejection during commercialization. Salicylic Acid (SA) and Chitosan (CHS) have shown potential to prevent fruit decay as they activate defensive responses in plants [11,12]. These responses can include defense activities such as cell wall reinforcement and production of antimicrobial metabolites [13,8]. The application of exogenous SA has shown potential to activate a general defensive response including phenylpropanoid pathway activation [13]. SA applications have shown a positive effect reducing softening during fruit storage [14]; this could be attributed to reduction in cell wall degradation and reduced cell wall degrading enzyme activity [3,15]. Chitosan has a wide range of applications including growth stimulation, antimicrobial effect; transport mean for other molecules and it is also effective as elicitor in plant innate immune system stimulation and increase of PAL activity [16,17].

The aim of this study is to describe the effect on the activity of relevant enzymes related to fruit maturation and senescence by testing the application of salicylic acid and chitosan as pre-harvest treatments.

II. MATERIALS AND METHODS

Experimental site

The experimental site was set in Senegal de las Palomas community located in Querétaro, México, (20°26'10.1"N, 100°05'06.6"W). Blackberry plants (Cv. "Tupi") established in May 2016 in commercial open field conditions were used for the experiment.

Treatments

Salicylic Acid (J.T. Baker, USA) and Chitosan (Alzor Biotechnologies, México) treatments were prepared at SA 3 mM and CHS 0.25% concentrations. Plants were sprayed until dripping point using hand-held sprayers at a volume of 1L per row of 80 plants. Plants sprayed with distilled water were used as controls.

Fruit sample preparation

Black and brilliant blackberries with fully developed drupelets located at similar parts of the plant with no evidence of mechanical damage, discoloration or infection were collected 5 hours after treatment application in commercial 6 Oz PET clamshells, they were transported to the laboratory and then stored at $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ until they were assayed for enzyme extraction.

Enzymatic activity

Superoxide dismutase (EC 1.15.1.1), Catalase (EC 1.11.1.6), and Phenylalanine ammonia-lyase (EC 4.3.1.24) activities were determined in similar way to [18,19] and [20] respectively. Briefly, 500 mg of sample was weighted and frozen grounded with 1 to 4 ml of 50mM sodium phosphate (pH=7.8) extraction buffer. Sample was centrifuged for 20 minutes at 10,000 rpm and 4°C . Supernatant was collected as enzyme extract for SOD, CAT, PAL and total protein determinations. For SOD activity, 0.05 ml of enzyme extract were added to reaction mix containing 1.5 ml sodium phosphate buffer (pH= 7.8), 0.3 ml EDTA 0.1mM, 0.3 ml methionine 0.13M, 0.3 ml NBT 0.75M, and 0.3 ml riboflavin 0.02M. Samples were exposed to uniform light for 20 minutes. Absorbance was read at 560 nm. One SOD unit (U) was defined as the amount of enzyme that inhibits the rate of NBT reduction by 50% under the above assay conditions. For CAT activity, 0.3 ml of enzyme extract were mixed with 0.1 ml of hydrogen peroxide (H_2O_2) 100mM in 1.9 ml sodium phosphate buffer (pH= 7.8). The decrease in absorbance was measured at 240 nm for one minute every 10 seconds. One unit of CAT activity was equal to 1 μmol of H_2O_2 degraded per minute. PAL activity was determined by adding 100 micro liters of enzyme to 1.15 ml of borate 0.1 M/10mM L-Phenylalanine (pH=8.8) buffer. Samples were incubated for 1 hour at 40°C , 0.25 ml of HCl 1N were added to stop the reaction. Samples were rested for 10 min at ambient temperature then absorbance was measured at 290 nm, compared to a trans-cinnamic acid standard. One unit of PAL activity was considered as 1 μmol of trans-cinnamic acid generated per minute. **Total protein** was determined according to [21] by mixing 0.05 ml of enzyme extract and 1.5 ml Bradford reagent. Absorbance was read at 595 nm and compared to a bovine serum albumin standard. Enzyme activity is expressed as U/mg of protein for SOD, CAT and PAL. **Polygalacturonase (EC 3.2.1.15)** activity was determined as relative activity percentage by viscosity reduction similar to [22] and [10] with some modifications. Briefly, 500 mg of frozen fruit were grounded with 5 ml of ice cold 12% polyethylene glycol. Samples were centrifuged at 13000 g for 10 min at 4°C . Supernatant was dismissed and the pellet was incubated for 2 hours at 4°C with NaCl 0.5 M/50 mM acetate buffer (pH= 4.4). The samples were centrifuged at 13000 g for 10 min at 4°C . The supernatant was recovered as crude enzyme extract. For essay, 1 ml of extract and 4 ml of a

2% pectin solution dissolved in acetate buffer 50 mM were mixed. Viscosity was estimated by determining the time required for the solution to pass from the 0.4 to the 0.9 ml mark of a 1 ml pipette and activity was expressed as relative PG activity compared to a control sample at different times at ambient temperature.

Statistical analysis

Data were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA). Mean separations were performed by Tukey-Kramer HSD test. Differences at $P = 0.05$ were considered as significant. Percentage comparison for PG activity was performed using a transformation function. The analyses were performed using IBM SPSS Statistics v. 25 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) and JMP v. 12.1.0 (SAS Institute Inc., North Carolina, USA).

III. RESULTS AND DISCUSSION

Enzymatic activity SOD, CAT and PAL

Changes in the activity of enzymes were detected among the fruit treated (Table 1). The activity of SOD with CHS decreased and increased with SA. CAT activity increased significantly with the AS treatment. PAL activity was higher with AS treatment and was also increased with CHS. Fruit ripening is reported to have a high ROS turnover due to the fact that involves oxidative processes [23]. It has been reported that imbalance between the production and scavenging of reactive oxygen species can produce oxidative stress due to high levels of radicals present in the environment or as by-products of plant metabolism, therefore the content of this species tend remain low in normal conditions [24]. Studies have reported that SOD and CAT activities are related to delaying the senescence process in fruits [25]. Activation of phenylpropanoid metabolism is commonly induced as plants way to protect from attacks and could also result in enhancing cell wall integrity [26, 27]. In this study changes in ROS scavenging enzymes activity and PAL activation indicate that the treatments could enhance resistance to oxidative stress and improve overall quality of blackberry.

Table 1. Enzymatic activity of blackberry fruit

Treatment	Enzymatic Activity (U/ mg of protein)		
	SOD	CAT	PAL
SA 3mM	31.59 \pm 0.50 a	76.05 \pm 4.28 a	6.27 \pm 0.205 a
CHS 0.25%	15.00 \pm 1.80 c	49.66 \pm 2.34 ab	3.36 \pm 0.008 b
CONTROL	21.00 \pm 1.20 b	40.41 \pm 9.39 b	1.93 \pm 0.012 c

HSD Tukey- Kramer test, $n = 3$, $\alpha = 0.05$.

Data expressed as mean \pm SME.

Different letters indicate significant difference within columns.

Enzymatic activity (PG)

PG activity was reduced with both SA and CHS treatments (Table 2). A very similar tendency on viscosity change was

observed through time, being CHS treatment the most effective in reducing PG activity.

Table 2. Relative PG activity

Treatment	Hours after extract addition			
	0	3.5	7.5	22
CONTROL	0.996 ± 0.00248 a	0.995 ± 0.00316 a	0.996 ± 0.00360 a	0.996 ± 0.00259 a
SA 3mM	0.974 ± 0.00171 b	0.978 ± 0.00419 b	0.963 ± 0.00199 b	0.984 ± 0.00253 b
CHS 0.25%	0.952 ± 0.00145 c	0.956 ± 0.00173 c	0.942 ± 0.00580 c	0.951 ± 0.00173 c

Data expressed as transformed viscosity percentage value (1+log x), mean ± SME.
HSD Tukey- Kramer test, n= 3, α=0.05.
Different letters indicate significant difference within columns.

Changes in cell wall leading to fruit softening involve the activation of a range of cell wall-modifying hydrolases, including PG, which is responsible for pectin degradation, one of the mayor components for cellular adhesion [9]. In this study reduced PG activity indicates that the treatments could delay cell wall disassembly in blackberry fruit.

IV. CONCLUSIONS

The effects on blackberry using SA and CHS as elicitors on pre-harvest treatments suggest promising results as a complementary technology to improve fruit quality and extend blackberry shelf life by delaying the senescence and softening processes, enhancing fruit ROS scavenging capacity and activating plant defense mechanisms.

V. ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the Autonomous University of Querétaro FOPER-2019-00591/2020-FIN01455 programs, CONACYT A1.S.33677 project and CONACYT CVU:500818 scholarship. We also express our gratitude to Mr. Alex, Mr. Resti and their team for providing plant material in favor of the conducted research.

REFERENCES

[1] O. Paredes-López, M. L. Cervantes-Ceja, M. Vigna-Pérez, and T. Hernández-Pérez, "Berries: improving human health and healthy aging, and promoting quality life—a review," *Plant foods for human nutrition*, vol. 65, no. 3, pp. 299–308, 2010.

[2] A. T. Chávez-Bárceñas, C. Alonso-Ojeda, and P. A. García-Saucedo, "Protéomica de la maduración de frutos de zarzamora (*Rubus sp.*) cultivados en México, una primera aproximación," *Ra Ximhai*, vol. 8, no. 3, 2012.

[3] A. Lo'ay, "Preharvest salicylic acid and delay ripening of 'superior seedless' grapes". *Egyptian journal of basic and applied sciences*, vol. 4, no. 3, pp. 227–230, 2017.

[4] W. Saibi, F. Brini, Superoxide dismutase (SOD) and abiotic stress tolerance in plants: An overview, *Superoxide Dismutase: Structure, Synthesis and Applications*; Magliozzi, S., Ed (2018) 101–142.

[5] N. Garg, G. Manchanda, ROS generation in plants: boon or bane? *Plant Biosys.* 143 (2009) 8-96.

[6] B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge, *Free Radicals in Biology and Medicine*, third ed. Oxford University, Press, Oxford, 2015.

[7] H. Kessmann, T. Staub, J. Ligon, M. Oostendorp, and J. Ryals, "Activation of systemic acquired disease resistance in plants," *European Journal of Plant Pathology*, vol. 100, no. 6, pp. 359–369, 1994.

[8] L. Taiz and E. Zeiger, "Plant physiology sinauer associates," *Inc., Sunderland, MA*, 2006.

[9] K. Wakabayashi, J.-P. Chun, D. J. Huber, Extensive solubilization and depolymerization of cell wall polysaccharides during avocado (*perseaamericana*) ripening involves concerted action of polygalacturonase and pectinmethylesterase, *Physiologia Plantarum. Vol .108* (2000) 345–352.

[10] D. A. Brummell, V. Dal Cin, C. H. Crisosto, J. M. Labavitch, Cell wall metabolism during maturation, ripening and senescence of peach fruit, *Journal of experimental botany*, vol. 55 (2004) 2029–2039.

[11] Z. Shi, F. Wang, Y. Lu, J. Deng, Combination of chitosan and salicylic acid to control postharvest green mold caused by *penicillium digitatum* in grapefruit fruit, *Scientia horticulturae*, vol. 233 (2018) 54–60.

[12] L. Lucini, G. Baccolo, Y. Roupheal, G. Colla, L. Bavaresco, M. Trevisan, Chitosan treatment elicited defence mechanisms, pentacyclic triterpenoids and stilbene accumulation in grape (*vitis vinifera* L.) bunches, *Phytochemistry*, vol. 156 (2018) 1–8.

[13] M. Li, M. Yu, Z. Zhang, Z. Liu, Y. Pan, Control of black spot disease caused by *alternaria alternata* on jujube (*ziziphus jujuba* mill. cv. dongzao) using harpinxoo protein, *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, vol. 87 (2012) 250–254.

[14] M. Shafiee, T. Taghavi, and M. Babalar, "Addition of salicylic acid to nutrient solution combined with postharvest treatments (hot water, salicylic acid, and calcium dipping) improved postharvest fruit quality of strawberry," *Scientia horticulturae*, vol. 124, no. 1, pp. 40–45, 2010.

[15] A. Lo'ay and M. El-Boray, "Improving fruit cluster quality attributes of 'flame seedless' grapes using preharvest application of ascorbic and salicylic acid," *Scientia Horticulturae*, vol. 233, pp. 339–348, 2018.

[16] S. Silva Junior, N. Stamford, M. Lima, T. Arnaud, M. Pintado, and B. Sarmiento, "Characterization and inhibitory activity of chitosan on hyphae growth and morphology of *botrytis cinerea* plant pathogen," *International Journal of Applied Research in Natural Products*, 7(4), pp. 31–38. 2014.

[17] H. Yin, X. Zhao, and Y. Du, "Oligochitosan: a plant diseases vaccine—a review," *Carbohydrate Polymers*, vol. 82, no. 1, pp. 1–8, 2010.

[18] C. Beauchamp, I. Fridovich, Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels, *Analytical biochemistry* 44 (1971) 276–287.

[19] H. Aebi, [13] catalase in vitro, in: *Methods in enzymology*, vol. 105, Elsevier, 1984, pp. 121–126.

[20] D. Dickerson, S. Pascholati, A. E. Hagerman, L. Butler, R. Nicholson, Phenylalanine ammonia-lyase and hydroxycinnamate: Coa ligase in maize mesocotyls inoculated with *helminthosporium maydis* or *helminthosporium carbonum*, *Physiological plant pathology*. Vol. 25 (1984) 111–123.

[21] M. M. Bradford, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical biochemistry* 72 (1976) 248–254.

[22] F. B. Abeles, C. L. Biles, Cellulase activity in developing apple fruits, *Scientia Horticulturae*, vol. 47 (1991) 77–87.

[23] B. Wang, J. Wang, X. Feng, L. Lin, Y. Zhao, W. Jiang, E acts of 1-mcp and exogenous ethylene on fruit ripening and antioxidants in stored mango. *Plant Growth Regulation*, vol. 57 (2009) 185.

[24] L. Wang, L. Wang, Z. Zhang, M. Ma, R. Wang, M. Qian, S. Zhang, Genome-wide identification and comparative analysis of the superoxide dismutase gene family in pear and their functions during fruit ripening, *Postharvest biology and technology* 143 (2018) 68–77.

[25] M. K. Saba, S. Moradi, Internal browning disorder of eight pear cultivars affected by bioactive constituents and enzyme activity, *Food chemistry* 205 (2016) 257–263.

[26] E. Haslam, "Plant polyphenols (syn. vegetable tannins) and chemical defense—a reappraisal," *Journal of Chemical Ecology*, vol. 14, no. 10, pp. 1789–1805, 1988.

[27] F. Muro-Villanueva, X. Mao, and C. Chapple, "Linking phenylpropanoid metabolism, lignin deposition, and plant growth inhibition," *Current opinion in biotechnology*, vol. 56, pp. 202–208, 2019.

Congreso Internacional de Ingeniería 2019



Joel E. Martínez <qajoelmartinez@gmail.com>

Notificación - CONIIN 2019

CONIIN 2019 <coniin2019@easychair.org>
Para: Joel Ernesto Martínez Camacho <qajoelmartinez@gmail.com>

30 de abril de 2019 a las 13:21

(Versión en Español)

Estimado Joel Ernesto Martínez Camacho,

Su Artículo No.: 20

Titulado: Extending blackberry shelf life through elicitation: A Review

Ha sido ACEPTADO para PRESENTACION ORAL.

Por favor revise las recomendaciones de los revisores y realice las modificaciones a su artículo y vuelva a subirlo a la plataforma de EasyChair con las modificaciones correspondientes antes del 12 de Mayo del 2019.

Para realizar el pago correspondiente puede hacerlo en la página oficial:

Ingenieria.uaq.mx/coniin

En la sección "REGISTRATION INFORMATION > REGISTER AND PAYMENT FOR ORAL AND POSTER" de acuerdo a la categoría correspondiente (Licenciatura, Posgrado Local – UAQ, Posgrado Foráneo).

Le recordamos que debe realizarse un pago por cada integrante que desee recibir un reconocimiento y que estos se general individualmente. Cada pago le hará acreedor a un KIT de Bienvenida de alta calidad como es costumbre de nuestro Congreso.

En breve aparecerá publicado en la página oficial en la sección "ABOUT > SCHEDULE" el horario en el que será programada su conferencia.

Reciba un cordial saludo y agradecimiento por su participación, nos vemos en el próximo CONIIN a partir del 13 Mayo del 2019, en el 3er. Piso del Parque Biotecnológico de la Facultad de Ingeniería de la UAQ para la Inauguración del Evento a las 9:00Hrs.

"El ingenio para crear, no para destruir"

Dr. Gonzalo Macías Bobadilla
Conference Chair
CONIIN 2019

Extending blackberry shelf life through elicitation: A Review

Martínez-Camacho Joel Ernesto, Feregrino-Pérez Ana Angélica and Torres-Pacheco Irineo
 Facultad de Ingeniería, Campus Amazcala
 Universidad Autónoma de Querétaro
 El Marqués, Querétaro, México
 qajoelmartinez@gmail.com

Abstract— Blackberry (*Rubus sp*) has been identified as a source of numerous antioxidant compounds, which have been related to benefits for human health. The variety of antioxidant phenolics includes flavonoids, stilbenes, tannins, and phenolic acids. The use of elicitors is a commonly employed technique with a wide range of applications to trigger signaling for plants to response in a morphological or physiological level, including the productions of secondary metabolites. Extensive study has shown that this compounds can act as antimicrobials. The content of this phytochemicals not only affect the quality and nutritional value of the fruit, they also have an important role in plant resistance mechanisms, which could lead to an increase in shelf life due to the reduction of post harvest diseases and enhancing of biomechanical properties. Several studies have reported that the application of elicitors can positively affect such properties to raise fruit quality. The aim of this review article is briefly introducing the possibility of elicitation using salicylic acid and chitosan as a complementary method for extending the shelf life of blackberry.

Keywords—*Rubus sp*; elicitor; shelf life; secondary metabolites; chitosan; salicylic acid.

I. INTRODUCTION

Blackberry (*Rubus sp*) is among the fruits with higher levels of phenolic compounds [1]. They are an important source of micro and macronutrients, however most of their health benefits have been attributed to the high levels of bioactive compounds with widely known antioxidant capacity [2]. It has been reported that phenolic compounds have antibacterial, anti-inflammatory, cardio protector and anti-diabetic effects [3,4] therefore it has become of great interest to increase the levels of this compounds in foods [5]. Blackberries in general have a very short shelf life, and they are also susceptible to mechanical damage. Even blackberry is considered a non-climacteric fruit [6] it has high respiration rates that reduces its shelf life considerably [7].

II. BIOACTIVE COMPOUNDS IN BLACKBERRY

Phenolic acids that are derivatives from cinnamic and benzoic acids [3] are normally esterified with other molecules such as carbohydrates and organic acids [2]. Anthocyanins are an important group of phenolic compounds that are responsible for blackberry pigmentation, and are present mainly in the fruit skin [2]. Flavonoids are synthesized from acetic acid derivatives. They have antiviral, anti-inflammatory

among other health benefits [4]. Stilbenes like resveratrol and its analogs have been reported to have anti-inflammatory, anti-aging, antiallergenic and anti-mutagenic properties [2].

III. STORAGE AND TRANSPORTATION

Blackberry is a highly perishable fruit so uttermost post harvest care is required during transportation and storage [8]. Currently the most employed strategies for increasing blackberry shelf life are: cold storage, modified atmospheres and edible coatings [9]. Fresh produced blackberry can last up to 14 days in cold storage at 0° C with relative humidity above 90% [10]. For international marketing this conditions are hard to achieve and maintain, as cold storage is not available for airfreight. Heap [11] reported that the temperature of air cargo transported from Europe to the United States varied from -1°C to 26°C in spite of instructions to preserve it in a 2°C-8°C range. Blackberry stored in modified atmosphere conditions presented a decrease in rot in comparison with the control treatment [12]. Although this is a viable option to improve blackberry shelf life, it does not substitute cold storage and extra costs should be considered [13]; this type of modified atmosphere storage is only available for road and ship transportation. Edible coatings have presented positive results in increasing shelf life. Pérez-Gallardo [14] reported that starch coating could delay the ripening process. Edible coatings can emulate modified atmosphere effects [15], however, coatings can also promote anaerobic respiration as well as ethanol and acetaldehyde synthesis [16] resulting in flavor diminishing.

Storage Temperature (°C)	Shelf life (Days)	Respiration Rate (mg CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)
0	10-14	18-20
4-5	4	31-41
10	2	62
20	1	100-130

Table 1. Estimated blackberry shelf life, assuming 90-95% relative humidity (Adaptation: Perkins-Veazie, 2016).

Temperature is a key factor (Table 1) in blackberry respiration rate. Therefore cold storage is the predominant technique to preserve product quality, restricting respiration and also inhibiting decay microorganisms growth [17]. Exposing blackberries to temperatures above 5°C shortens its



shelf life quickly due to increase in respiration and weight loss [18]. Optimal storage temperature for blackberry is 0-5°C with 90-95% relative humidity.

IV. PATHOGEN ATTACK

Most of the pathogens rely on some physical or physiological disorder to invade plant tissue, just a few are capable of actively penetrating through healthy fruit skin [19]. *Botrytis cinerea* and *Fusarium oxysporum* are two of the most important pathogens that affect blackberry. Due to its commercial and scientific importance *B. cinerea* has been classified as the second most important plant pathogen [20]. *Fusarium oxysporum* causes wilting due to vascular tissue colonization and can be dispersed by air, soil, seeds or infected plant material [21]. A variety of plant compounds have shown antifungal activity against *B. cinerea* infection under laboratory conditions [22]. The application of phenolic compounds has shown promising results in the prevention of infections by *B. cinerea*. Ferulic acid application resulted in inhibition of growth, affecting germination and growth rate of *B. cinerea* mycelium [23]. Pterostilbene and piceatannol prevented significantly table grapes decay after 9 days of storage at 22°C, pterostilbene inhibited grey mold growth, and disease incidence was reduced by 75%, in comparison with control, with a piceatannol treatment [24]. In 2017 [25], observed a significantly positive correlation between antifungal activity against *F. Oxysporum* and total phenolic compound content in xerophyte plants. The inhibitory effect could be attributed to phenolic compounds effect in synthesis, secretion and hydrolase activity.

V. ELICITORS AND POSSIBLE CORRELATION TO BLACKBERRY SHELF LIFE

An elicitor is defined as a compound that, in small concentrations, can activate different plant responses, such as endogenous protection responses, including the production of different secondary metabolites [26]. Several studies have established that interactions between an elicitor and a plant (Figure 1) can trigger the activity of enzymes responsible for the synthesis of phenolic compounds [27].

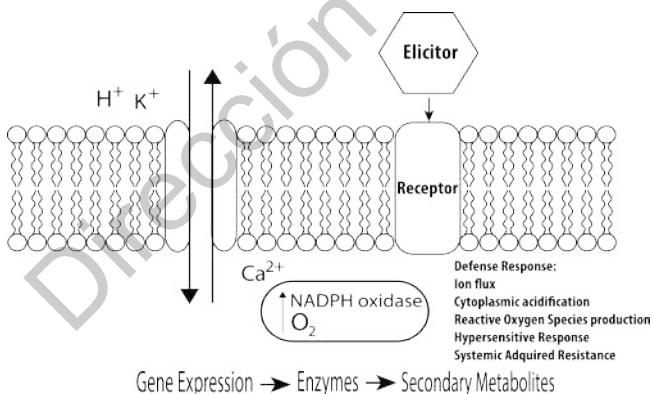


Figure 1. Responses triggered by the interaction of a plant with an elicitor (Modified: Baenas et al., 2014).

Phenolic compounds are the most commonly induced and released when infection of fruits and vegetables takes place [29] as plants way to protect from attacks. Phenylpropanoid pathway is the first step in which plants synthesize all phenolic compounds [27], which starts with the phenylalanine.

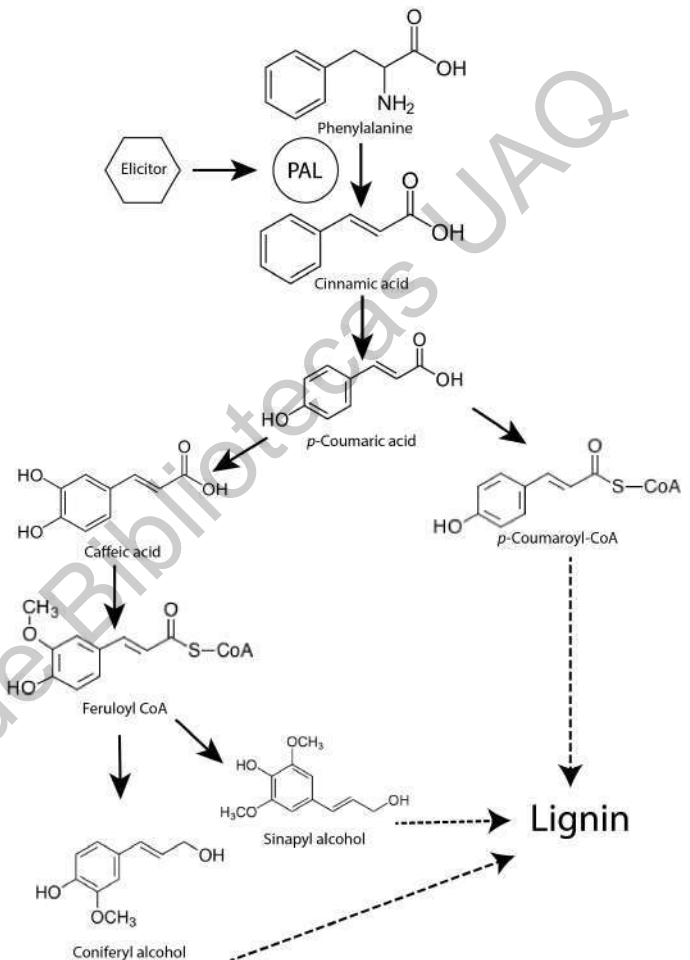


Figure 2. Activation of PAL, associated to phenolic acids synthesis pathway (Adaptation: Dixon and Paiva, 1995; Cocuron et al., 2018).

Phenylalanine ammonia-lyase (PAL) is a key enzyme in the synthesis of phenolic compounds [32]. The conversion of phenylalanine to cinnamic acid is the first committed step to the phenylpropanoid pathway (Figure 2). Cinnamic acid will then branch into the conversion of additional phenolic acids. Alternatively, cinnamic acid can be converted to coumaroyl-CoA, which will lead to additional phenolics and lignin polymerization [31].

Biomechanical properties in fruits and vegetables are an important aspect of their quality, especially in delicate fruits with a short shelf storage life, such as blackberries [33]. It has been reported that phenolic compounds have the capacity of retarding microbial invasion in fruits and vegetables, as well as some putrefaction of other products. Phenolic compounds have been extensively studied for their application in the food

industry for improving the shelf life of perishable products [34]. Phenylpropanoid compounds have been related to defense activities as cell wall reinforcement, repellent and antimicrobial activities [35]. Phenolic compounds produced through phenylpropanoid pathway get stored in the vacuole or deposited in the cell wall, once there they can be linked by an ester or ether bond to the cell wall polysaccharides, hemicelluloses or they can also be polymerized to lignin [36].

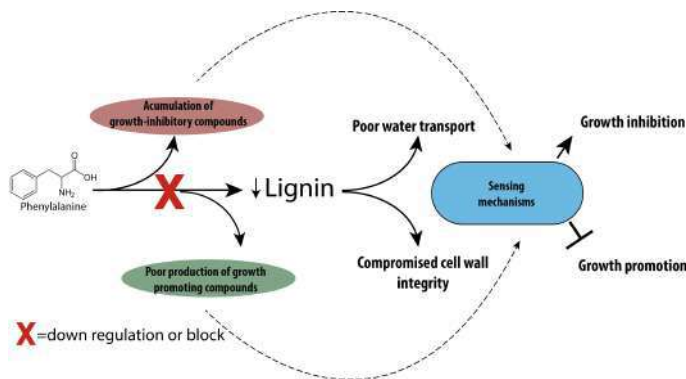


Figure 3. Alteration in phenylpropanoid metabolism and lignin deposition linked to growth inhibition (Modified: Muro-Villanueva et al., 2019)

As stated by Muro-Villanueva [37], down regulation or block in phenylpropanoid metabolism could lead to accumulation of growth-inhibitory compounds, a reduction in lignin content could result in weak xylem vessel cell walls, vascular collapse and ultimately compromised cell wall integrity (Figure 3). On the other hand, activation of phenylpropanoid metabolism could result in enhancing cell wall integrity. Blackberries are susceptible to color reversion, which is the occurrence of red drupelets after harvest. Ultimately, the breaking of cell walls or vacuoles within the drupelet allows the pigment to be exposed and change color in response [38]. This color change or reversion in blackberry fruit is one of the main reasons for rejection during commercialization.

VI. SALICYLIC ACID AND CHITOSAN

Salicylic Acid (SA) is a phytohormone with phenolic origin that has importance in growth and plant development. The application of exogenous SA has shown potential to prevent fruit and vegetable post harvest decay [39]; it activates a general defensive response that includes phenylpropanoid pathway activation [27]. This activation could be related with the activation of systemic acquired resistance, which is part of the phenylpropanoid metabolism [32]. SA application had a positive effect reducing weight loss, decay and softening during fruit storage [40] this could be attributed to reduction in cell wall degradation, slowing down hydrolase activity, enhancing physical fruit properties such as firmness [41]. SA treatments on "Flame seedless" grapes minimize wall degrading enzyme activity [42].

Chitosan is a linear polysaccharide derived from chitin it is one of the most abundant polysaccharides on earth [43]. It has a wide range of applications including growth stimulation,

antimicrobial effect; transport mean for other molecules and it is also effective as elicitor in plant innate immune system stimulation [44]. A variety of biological activities have been reported for chitosan including ability to stimulate plant resistance mechanisms, antifungal and antibacterial effects [45]. It has been reported that chitosan as an elicitor activates phytoalexin production [46]. Regarding this topic its main application has been related in the development of films and coverings to improve shelf life in fruits [47]. It has been reported that chitosan stopped fungal related decay in strawberry as well as growth inhibition in *F. oxysporum* and *B. cinerea* [48,49,50]. Table grapes treated with 1.0% chitosan showed a significant increase of PAL activity. Besides a direct activity against *B. cinerea*, chitosan produces other effects contributing to reduce decay [50].

VII. CONCLUSIONS

According to research reports, the beneficial effects on fruit quality and decay control using elicitors as pre and post harvest treatments suggest that this could have promising results as a complementary technology to extend shelf life of blackberries. With the recent tendencies in Agriculture, integrating technologies like elicitation, that are more eco-friendly and less residual, could lead at the same time to produce higher quality and more nutritious foods.

REFERENCES

- [1] U. Zlotek, M. Świeca, and A. Jakubczyk, "Effect of abiotic elicitation on main health-promoting compounds, antioxidant activity and commercial quality of butter lettuce (*lactuca sativa* l.)," *Food chemistry*, vol. 148, pp. 253–260, 2014.
- [2] O. Paredes-López, M. L. Cervantes-Ceja, M. Vigna-Pérez, and T. Hernández-Pérez, "Berries: improving human health and healthy aging, and promoting quality life—a review," *Plant foods for human nutrition*, vol. 65, no. 3, pp. 299–308, 2010.
- [3] P. Padmanabhan, J. Coreea-Betanzo, and G. Paliyath, "Berries and related fruits," *Encyclopedia of Food and Health, Reference Module in Food Science*, pp. 364–371, 2016.
- [4] T.-y. Wang, Q. Li, and K.-s. Bi, "Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate," *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 13, no. 1, pp. 12–23, 2018.
- [5] J. Zhao, L. C. Davis, and R. Verpoorte, "Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites," *Biotechnology advances*, vol. 23, no. 4, pp. 283–333, 2005.
- [6] J.-C. Pech, E. Purgatto, M. Bouzayen, and A. Latch'e, "Ethylene and fruit ripening," *Annu Plant Rev Plant Horm Ethyl*, vol. 44, pp. 275–304, 2012.
- [7] J. C. De la Vega, M. A. Cañarejo, and N. S. Pinto, "Avances en tecnología de atmósferas controladas y sus aplicaciones en la industria. una revisión," *Información tecnológica*, vol. 28, no. 3, pp. 75–86, 2017.
- [8] A. T. Chávez-Bárceñas, C. Alonso-Ojeda, and P. A. García-Saucedo, "Proteómica de la maduración de frutos de zarzamora (*rubus* sp.) cultivados en México, una primera aproximación," *Ra Ximhai*, vol. 8, no. 3, 2012.
- [9] M. Benichou, J. Ayour, M. Sagar, A. Alahyane, I. Elateri, and A. Aitoubahou, "Postharvest technologies for shelf life enhancement of temperate fruits," in *Postharvest Biology and Technology of Temperate Fruits*. Springer, 2018, pp. 77–100.
- [10] P. Perkins-Veazie, "The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks," in *Agriculture Handbook Number 66. The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*. USDA, 2016, p. 237.



- [11] R. Heap, "Cold chain performance issues now and in the future," *Bulletin of the IIR*, vol. 4, 2006.
- [12] P. P. Veazie and J. Collins, "Quality of erect-type blackberry fruit after short intervals of controlled atmosphere storage," *Postharvest biology and Technology*, vol. 25, no. 2, pp. 235–239, 2002.
- [13] P. Perkins-Veazie, "Postharvest storage and transportation of blackberries," in *Blackberries and their hybrids*. CAB International, 2017, pp. 266–281.
- [14] A. Pérez-Gallardo, B. García-Almendárez, G. Barbosa-Cánovas, D. Pimentel-González, L. Reyes-González, and C. Regalado, "Effect of starch-beeswax coatings on quality parameters of blackberries (*rubus* spp.)," *Journal of food science and technology*, vol. 52, no. 9, pp. 5601–5610, 2015.
- [15] E. A. Baldwin, "The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks," in *Agriculture Handbook Number 66. The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*. USDA, 2016, p. 133.
- [16] E. Baldwin, J. Burns, W. Kazokas, J. Brecht, R. Hagenmaier, R. Bender, and E. Pesis, "Effect of two edible coatings with different permeability characteristics on mango (*mangifera indica* l.) ripening during storage," *Postharvest Biology and Technology*, vol. 17, no. 3, pp. 215–226, 1999.
- [17] N. Bhat, "Postharvest storage systems: Biology, physical factors, storage, and transport," in *Handbook of Fruits and Fruit Processing*. Wiley-Blackwell, 2012, pp. 87–97.
- [18] P. Perkins-Veazie, J. Collins, and J. Clark, "Shelf-life and quality of 'navaho' and 'shawnee' blackberry fruit stored under retail storage conditions 1," *Journal of Food Quality*, vol. 22, no. 5, pp. 535–544, 1999.
- [19] A. A. Kader, *Postharvest technology of horticultural crops*. University of California Agriculture and Natural Resources, 2002, vol. 3311.
- [20] R. Dean, J. A. Van Kan, Z. A. Pretorius, K. E. Hammond-Kosack, A. Di Pietro, P. D. Spanu, J. J. Rudd, M. Dickman, R. Kahmann, J. Ellis et al., "The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology," *Molecular plant pathology*, vol. 13, no. 4, pp. 414–430, 2012.
- [21] J. F. Leslie and B. A. Summerell, *The Fusarium laboratory manual*. John Wiley & Sons, 2008.
- [22] P. Tripathi and N. Dubey, "Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables," *Postharvest biology and Technology*, vol. 32, no. 3, pp. 235–245, 2004.
- [23] H. Patzke and A. Schieber, "Growth-inhibitory activity of phenolic compounds applied in an emulsifiable concentrate-ferulic acid as a natural pesticide against botrytis cinerea," *Food Research International*, vol. 113, pp. 18–23, 2018.
- [24] D. Xu, Y. Deng, T. Han, L. Jiang, P. Xi, Q. Wang, Z. Jiang, and L. Gao, "In vitro and in vivo effectiveness of phenolic compounds for the control of postharvest gray mold of table grapes," *Postharvest Biology and Technology*, vol. 139, pp. 106–114, 2018.
- [25] M. S. Mohamed, A. M. Saleh, I. B. Abdel-Farid, and S. A. El-Naggar, "Growth, hydrolases and ultrastructure of fusarium oxysporum as affected by phenolic rich extracts from several xerophytic plants," *Pesticide biochemistry and physiology*, vol. 141, pp. 57–64, 2017.
- [26] Namdeo, A. (2007). Plant Cell Elicitation for Production of Secondary Metabolites: A Review. *Pharmacognosy Reviews*, 1. Pp. 69-79.
- [27] M. Li, M. Yu, Z. Zhang, Z. Liu, and Y. Pan, "Control of black spot disease caused by alternaria alternata on jujube (*ziziphus jujuba* mill. cv. dongzao) using harpinxoo protein," *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, vol. 87, no. 3, pp. 250–254, 2012.
- [28] N. Baenas, C. Garcia-Viguera, and D. Moreno, "Elicitation: a tool for enriching the bioactive composition of foods," *Molecules*, vol. 19, no. 9, pp. 13 541–13 563, 2014.
- [29] E. Haslam, "Plant polyphenols (syn. vegetable tannins) and chemical defense—a reappraisal," *Journal of Chemical Ecology*, vol. 14, no. 10, pp. 1789–1805, 1988.
- [30] R. A. Dixon and N. L. Paiva, "Stress-induced phenylpropanoid metabolism," *The plant cell*, vol. 7, no. 7, p. 1085, 1995.
- [31] J.-C. Cocuron, M. I. Casas, F. Yang, E. Grotewold, and A. P. Alonso, "Beyond the wall: High-throughput quantification of plant soluble and cell-wall bound phenolics by liquid chromatography tandem mass spectrometry," *Journal of Chromatography A*, 2018.
- [32] H. Kessmann, T. Staub, J. Ligon, M. Oostendorp, and J. Ryals, "Activation of systemic acquired disease resistance in plants," *European Journal of Plant Pathology*, vol. 100, no. 6, pp. 359–369, 1994.
- [33] S. H. Chávez Franco, E. Vázquez García, and C. Saucedo Veloz, "Propiedades biomecánicas de frutos de zarzamora," *Agrociencia*, vol. 34, no. 3, 2000.
- [34] S. Martillanes, J. Rocha-Pimienta, M. Cabrera-Bañegil, D. Martín-Vertedor, and J. Delgado-Adamez, "Application of phenolic compounds for food preservation: Food additive and active packaging," in *Phenolic Compounds-Biological Activity*. InTech, 2017.
- [35] L. Taiz and E. Zeiger, "Plant physiology sinauer associates," *Inc., Sunderland, MA*, 2006.
- [36] N. G. Lewis and E. Yamamoto, "Lignin: occurrence, biogenesis and biodegradation," *Annual review of plant biology*, vol. 41, no. 1, pp. 455–496, 1990.
- [37] F. Muro-Villanueva, X. Mao, and C. Chapple, "Linking phenylpropanoid metabolism, lignin deposition, and plant growth inhibition," *Current opinion in biotechnology*, vol. 56, pp. 202–208, 2019.
- [38] J. R. Clark, E. T. Stafne, H. K. Hall, and C. E. Finn, "Blackberry breeding and genetics," *Plant breeding reviews*, vol. 29, p. 19, 2007.
- [39] M. Asghari and M. S. Aghdam, "Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural crops," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 21, no. 10, pp. 502–509, 2010.
- [40] M. Shafiee, T. Taghavi, and M. Babalar, "Addition of salicylic acid to nutrient solution combined with postharvest treatments (hot water, salicylic acid, and calcium dipping) improved postharvest fruit quality of strawberry," *Scientia horticulturae*, vol. 124, no. 1, pp. 40–45, 2010.
- [41] A. Lo'ay, "Preharvest salicylic acid and delay ripening of 'superior seedless' grapes," *Egyptian journal of basic and applied sciences*, vol. 4, no. 3, pp. 227–230, 2017.
- [42] A. Lo'ay and M. El-Boray, "Improving fruit cluster quality attributes of 'flame seedless' grapes using preharvest application of ascorbic and salicylic acid," *Scientia Horticulturae*, vol. 233, pp. 339–348, 2018.
- [43] M. Aider, "Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry," *LWT-food science and technology*, vol. 43, no. 6, pp. 837–842, 2010.
- [44] H. Yin, X. Zhao, and Y. Du, "Oligochitosan: a plant diseases vaccine—a review," *Carbohydrate Polymers*, vol. 82, no. 1, pp. 1–8, 2010.
- [45] M. Rinaudo, "Chitin and chitosan: properties and applications," *Progress in polymer science*, vol. 31, no. 7, pp. 603–632, 2006.
- [46] T. Wu, S. Zivanovic, F. A. Draughon, W. S. Conway, and C. E. Sams, "Physicochemical properties and bioactivity of fungal chitin and chitosan," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 53, no. 10, pp. 3888–3894, 2005.
- [47] D. Zhang and P. C. Quantick, "Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage," *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, vol. 73, no. 6, pp. 763–767, 1998.
- [48] Hernández-Muñoz, E. Almenar, M.J. Ocio, R. Gavara. (2006). Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of strawberries (*Fragaria xananassa*). *Postharvest Biol. Technol.* 39, pp. 247–253.
- [49] S. Bautista Baños, M. Hernández López, and E. Bosquez Molina, "Growth inhibition of selected fungi by chitosan and plant extracts," *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 22, no. 2, 2004.
- [50] S. Silva Júnior, N. Stamford, M. Lima, T. Arnaud, M. Pintado, and B. Sarmento, "Characterization and inhibitory activity of chitosan on hyphae growth and morphology of botrytis cinerea plant pathogen," *International Journal of Applied Research in Natural Products*, 7(4), pp. 31–38. 2014.
- [51] G. Romanazzi, F. Nigro, A. Ippolito, D. Divenere, and M. Salerno, "Effects of pre-and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes," *Journal of Food Science*, vol. 67, no. 5, pp. 1862–1867, 2002.



9.4 Conferencias y presentaciones

Seminario FIBIO

Otorga el presente reconocimiento a:

**M.C. Joel Ernesto Martínez
Camacho**

Por su participación en el Seminario FIBIO 2020-1 llevado a cabo en
la Universidad Autónoma de Querétaro, Campus Amazcala

Con la ponencia titulada:

**"Manejo de la vida de anaquel
mediante elicitación en zarzamora (Rubus sp)"**


Dr. Enrique Rico García
Coordinador del Campus Amazcala
Facultad de Ingeniería


Dr. Iliana Torres Pacheco
Coordinador del
CAIB


Mtro. Adrián Esteban Ortega Torres
Coordinador del Seminario
FIBIO 2020-1









UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE QUERÉTARO



SOMOS UAQ
EDUCAR CRECER CONSOLIDAR

FOPER

FONDO DE PROYECTOS ESPECIALES DE RECTORÍA

La Universidad Autónoma de Querétaro
y la Secretaría de Atención a la Comunidad Universitaria
otorgan el presente

RECONOCIMIENTO

a
MARTÍNEZ CAMACHO JOEL ERNESTO

Por su participación como
RESPONSABLE DE PROYECTO

FOPER 2019

"Fondo de Proyectos Especiales de Rectoría"

Santiago de Querétaro, Qro, diciembre de 2019.

Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca
RECTORA

Lic. Verónica Núñez Perusquia
TITULAR DE LA SECRETARÍA DE ATENCIÓN
A LA COMUNIDAD UNIVERSITARIA





UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE
QUERÉTARO

Coordinación de
Emprendimiento
e Incubadora de Empresas - UAQ




La Secretaría Particular a través de la Coordinación de
Emprendimiento e Incubadora de Empresas UAQ

TIENE EL HONOR DE OTORGAR LA PRESENTE


CONSTANCIA

A: Martínez Camacho Joel Ernesto


Por su valiosa participación en la 2º Muestra Emprende UAQ.
Llevada a cabo el día **6 de Mayo de 2019**.
En la explanada de Rectoría, UAQ, Centro Universitario.



Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca
Rectora de la Universidad Autónoma de Querétaro



Mtro. Luis Alberto Fernández García
Secretario Particular



Dra. Ma. Sandra Hernández López
Coordinadora de Emprendimiento e Incubadora de Empresas UAQ

9.5 Costos de implementación

En la tabla Tabla 9.1 se muestran costos generales anuales de operación y mantenimiento para una hectárea de zarzamora.

Tabla 9.1 Costos de operación para una hectárea de zarzamora.

Insumos	Cantidad	Unidad	Costo Unitario	Subtotal
Agua para riego	8	millares	\$235.00	\$1,880.00
Para desarrollo vegetativo	1	Lote	\$25,860.00	\$25,860.00
Para floración	1	Lote	\$25,000.00	\$25,000.00
Para fructificación	1	Lote	\$25,000.00	\$25,000.00
Total insumos				\$77,740.00
Mano de obra				
Manejo durante desarrollo vegetativo	96	jornal	\$300.00	\$28,800.00
Manejo durante la floración	96	jornal	\$300.00	\$28,800.00
Manejo durante la fructificación	96	jornal	\$300.00	\$28,800.00
Coordinador de cosecha	96	jornal	\$300.00	\$28,800.00
Cosecha	250	jornal	\$300.00	\$75,000.00
Total mano de obra				\$190,200.00
Gastos de fabricación				
Uniformes y EPP	4	Juego	\$432.00	\$1,728.00
Herramienta	4	Juego	\$388.00	\$1,552.00
Aspersoras	1	Pieza	\$860.00	\$860.00
Renta del predio	1	Renta anual	\$10,000.00	\$10,000.00
Total gastos de fabricación				\$14,140.00

El costo total de operación anual para una hectárea de zarzamora es de aproximadamente \$ 282,000 pesos mexicanos. Se hace la aclaración que dicho costo es exclusivo de operación y mantenimiento anual, no incluye los costos de establecimiento, certificaciones, infraestructura o activo fijo. Tomando en cuenta una aplicación semanal durante 12 semanas los costos de aplicación de los tratamientos CHS 0.25 % y SA 3 mM por evento (Tabla 9.2) nos arrojan un costo total de \$ 2,853 para CHS 0.25 % y \$ 1,915 para SA 3 mM. Lo que representaría un 3.67 % y 2.46 % del costo de insumos anual respectivamente. La implementación de los tratamientos de representarían entre un 0.68 % y 1.01 % del costo de operación total anual para una hectárea de zarzamora.

Tabla 9.2 Costos de aplicación por evento de tratamientos para una hectárea de zarzamora.

Insumo	Cantidad	Unidad	Costo Unitario	Subtotal
Quitosano grado técnico	0.25	kg	\$951.00	\$237.75
Ácido salicílico grado reactivo	42	g	\$3.80	\$159.60

9.6 Votos aprobatorios

C.U. 21 de Mayo de 2020

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado UAQ
Dr. Juan Carlos Antonio Jáuregui Correa
Jefe de División de Investigación y Posgrado de la Facultad de Ingeniería

PRESENTE

Por este conducto comunico a usted que he revisado el trabajo de Tesis titulado: "**Manejo de la vida de anaquel mediante elicitación con quitosano y ácido salicílico en zarzamora (*Rubus sp.*)**" del alumno con expediente **127036**, Joel Ernesto Martínez Camacho de la Maestría en Ciencias en Ingeniería de Biosistemas, habiéndolo encontrado satisfactorio, por lo cual doy mi voto aprobatorio.

ATENTAMENTE



Dr. Irineo Torres Pacheco
Presidente

C.U. 21 de Mayo de 2020

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado UAQ
Dr. Juan Carlos Antonio Jáuregui Correa
Jefe de División de Investigación y Posgrado de la Facultad de Ingeniería

PRESENTE

Por este conducto comunico a usted que he revisado el trabajo de Tesis titulado: "**Manejo de la vida de anaquel mediante elicitación con quitosano y ácido salicílico en zarzamora (*Rubus sp.*)**" del alumno con expediente **127036**, Joel Ernesto Martínez Camacho de la Maestría en Ciencias en Ingeniería de Biosistemas, habiéndolo encontrado satisfactorio, por lo cual doy mi **voto aprobatorio**.

ATENTAMENTE


Dr. Ramón Gerardo Guevara González
Secretario

C.U. 21 de Mayo de 2020

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado UAQ
Dr. Juan Carlos Antonio Jáuregui Correa
Jefe de División de Investigación y Posgrado de la Facultad de Ingeniería

PRESENTE

Por este conducto comunico a usted que he revisado el trabajo de Tesis titulado: *"Manejo de la vida de anaquel mediante elicitación con quitosano y ácido salicílico en zarzamora (Rubus sp.)"* del alumno con expediente **127036**, Joel Ernesto Martínez Camacho de la Maestría en Ciencias en Ingeniería de Biosistemas, habiéndolo encontrado satisfactorio, por lo cual doy **mi voto aprobatorio**.

ATENTAMENTE



Dr. Enrique Rico García
Vocal

C.U. 27 de mayo de 2020

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado UAQ
Dr. Juan Carlos Antonio Jáuregui Correa
Jefe de División de Investigación y Posgrado de la Facultad de Ingeniería

PRESENTE

Por este conducto comunico a usted que he revisado el trabajo de Tesis titulado: ***“Manejo de la vida de anaquel mediante elicitación con quitosano y ácido salicílico en zarzamora (Rubus sp.)”*** del alumno con expediente **127036**, Joel Ernesto Martínez Camacho de la Maestría en Ciencias en Ingeniería de Biosistemas, habiéndolo encontrado satisfactorio, por lo cual doy **mi voto aprobatorio**.

ATENTAMENTE



Dra. Ana Angélica Feregrino Pérez
Suplente

C.U. 27 de mayo de 2020

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado UAQ
Dr. Juan Carlos Antonio Jáuregui Correa
Jefe de División de Investigación y Posgrado de la Facultad de Ingeniería

P R E S E N T E

Por este conducto comunico a usted que he revisado el trabajo de Tesis titulado: ***“Manejo de la vida de anaquel mediante elicitación con quitosano y ácido salicílico en zarzamora (Rubus sp.)”*** del alumno con expediente **127036**, Joel Ernesto Martínez Camacho de la Maestría en Ciencias en Ingeniería de Biosistemas, habiéndolo encontrado satisfactorio, por lo cual doy **mi voto aprobatorio**.

A T E N T A M E N T E



Dra. Rosalía Virginia Ocampo Velázquez
Suplente