

EFEECTO DE TRATAMIENTOS POSCOSECHA CON QUITOSANO Y ÁCIDO SALICÍLICO SOBRE LA VIDA DE ANAQUEL, CALIDAD Y ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA ZARZAMORA

Effect of chitosan and salicylic acid postharvest treatments on the shelf life,
quality and enzymatic activity of blackberry

Joel Ernesto Martínez-Camacho¹, Ramón Gerardo Guevara González¹,
Rosalía Virginia Ocampo-Velázquez¹, Enrique Rico García¹ e Irineo Torres Pacheco^{1*}

¹Universidad Autónoma de Querétaro

*Autor de correspondencia
torresirineo@gmail.com

RESUMEN

La zarzamora (*Rubus sp.*) ha sido identificada como una fuente de numerosos compuestos antioxidantes relacionados con beneficios a la salud humana. 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 influye en los mecanismos de resistencia de las plantas, así como en la calidad y el valor nutricional de los frutos. La zarzamora tiene una vida de anaquel corta, además es susceptible al daño mecánico y al fenómeno de reversión. Por ello, se han probado diversos métodos para incrementar su vida de anaquel, entre los que destacan el uso de cubiertas o de empaques modificados, el almacenamiento en atmósferas modificadas y la sanitización e irradiación; sin embargo, la mayoría de ellos están limitados en su aplicación por las frágiles características biomecánicas del fruto. El objetivo de este trabajo es proponer un método complementario para mejorar la vida útil de la zarzamora mediante el uso de quitosano y ácido salicílico. Los tratamientos comprobaron alargar la vida de anaquel de la zarzamora y mejorar sus características organolépticas, ya que los resultados demostraron un cambio en la actividad de enzimas relacionadas con los procesos de maduración y senescencia.

Palabras clave: Actividad enzimática, biotecnología, biosistemas, elicitador, fisiología vegetal.

ABSTRACT

Blackberry (*Rubus sp.*) has been identified as a source of numerous antioxidant compounds, which are related to benefits for human health. The use of elicitors is a common spread technique in a wide range of applications to trigger signaling for plants to respond on a morphological or physiological

level. This includes the activation of enzymes related to ripening and senescence processes. The activities of such enzymes have an important role in plant resistance mechanisms and also in the quality and nutritional value of fruits. Blackberry is fragile, susceptible to mechanical damage and 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. Most of these methods are limited by the blackberry's fragile biomechanical properties. By testing the effect of salicylic acid and chitosan treatments, the aim of this study was to propose a complementary method that could lead to the improvement of blackberry shelf life. The results showed changes in enzyme activity related to ripening and senescence processes. The treatments improved blackberry shelf life and enhanced its organoleptic properties.

Keywords: Biosystems, biotechnology, elicitor, enzymatic activity, plant physiology.

INTRODUCCIÓN

La zarzamora (*Rubus sp.*) se encuentra entre las frutas con mayor contenido de compuestos fenólicos [1], asimismo, posee propiedades antivirales, antiinflamatorias, cardioprotectoras y antidiabéticas [2], [3]. Dichos impactos positivos en la salud se atribuyen principalmente a su capacidad antioxidante y es de gran interés aumentar el contenido de estos compuestos en los alimentos [4], [5]. Las zarzamoras tienen una vida de anaquel corta, son susceptibles al daño mecánico y, al ser consideradas frutos no climatéricos, deben ser cosechadas en su punto de madurez o uno muy cercano a éste [6], [7]. Aunado a lo anterior, se debe considerar que son frutos susceptibles al daño mecánico y, ya que tiene altas tasas de respiración, su tiempo de vida útil se ve reducido [8].



La vida de anaquel o vida útil se define como el periodo en el que un alimento conserva las características sensoriales, químicas, físicas, microbiológicas y funcionales deseadas [9]. Muchos de los problemas de deterioro en frutas y vegetales se vinculan con cambios químicos, bioquímicos y físicos que influyen en la textura, el sabor, el cambio de color y el ablandamiento de sus tejidos[10]. La expresión asociada a estas modificaciones fisiológicas está controlada por estímulos externos e internos, incluyendo reguladores del crecimiento vegetal [11], [12]; factores como la temperatura de almacenamiento y el ataque de organismos de deterioro, influyen en la vida útil de los frutos [7]. La elicitación es una estrategia para incrementar la concentración de compuestos bioactivos en plantas, y a su vez las hace resistentes a factores de estrés, esto influye en la calidad de los frutos y el aumento en la producción de compuestos fitoquímicos [13]. Diversas investigaciones han reportado que la aplicación de elicitores, como el quitosano y el ácido salicílico, incide sobre las rutas metabólicas, estos compuestos se relacionan con propiedades del fruto que podrían alargar su vida de anaquel [14], [15]. En el presente trabajo se describe el impacto del ácido salicílico y el quitosano sobre las características organolépticas de la zarzamora, es decir, en su actividad enzimática y su vida de anaquel.

Métodos actuales para extender la vida de anaquel

La zarzamora, al ser un fruto altamente perecedero, requiere cuidados especiales durante su transporte y almacenamiento [12]. Uno de los principales factores que reduce la vida útil de la zarzamora es su alta tasa de respiración [8], de tal modo que su reservación en poscosecha a temperaturas apropiadas mejora la calidad del fruto y extiende su vida de anaquel. Esta estrategia disminuye la tasa de respiración, la pérdida de agua y el crecimiento de microorganismos [16], asimismo, se protegen cualidades como la textura, el

aroma y el sabor [17]. Los métodos más empleados para incrementar la vida de anaquel de la zarzamora son el almacenamiento en frío, el almacenamiento en atmósferas modificadas y el uso de cubiertas comestibles [7].

Elicitores y sus efectos en las plantas

Un elicitor se define como una sustancia que puede estimular los mecanismos de defensa en las plantas [18] y promover la actividad de enzimas como el superóxido dismutasa (SOD; EC 1.15.1.1), la catalasa (CAT; EC 1.11.1.6) y la fenilalanina amonio liasa (PAL; EC 4.3.1.24). Estas enzimas están relacionadas a la formación de compuestos que las plantas utilizan como protección contra el estrés oxidativo [19], [20]. Es de interés aumentar la actividad de enzimas vinculadas a la protección del fruto, y a la vez disminuir la actividad de enzimas sujetas a la senescencia, a los procesos de ablandamiento y a la maduración. Las respuestas de las plantas a factores de estrés incluyen la activación de mecanismos enzimáticos de defensa e intercambio iónico y la producción de metabolitos secundarios y especies reactivas de oxígeno (ROS), además de la regulación del crecimiento vegetal y calidad de los frutos [21].

Ácido salicílico y quitosano

El ácido salicílico es una molécula de origen fenólico fundamental para el crecimiento y desarrollo de las plantas. La aplicación de ácido salicílico exógeno ha exhibido un gran potencial para prevenir el deterioro de frutas y vegetales en poscosecha, ya que activa una respuesta defensiva general que incluye la activación de la ruta fenilpropanoide relacionada con la resistencia adquirida vegetal [22]-[24]. La respuesta de protección que se lleva a cabo en el sitio de ataque o infección es conocida como resistencia local adquirida (LAR) y, subsecuentemente, desencadena respuestas de defensa sistémica para proteger de los patógenos a las partes no dañadas de la planta; esta reacción, co-

nocida como resistencia sistémica adquirida (SAR), activa genes específicos que codifican proteínas con actividad antimicrobiana [25], [26]. La aplicación de ácido salicílico produce efectos positivos en diversos frutos, ya que aminora la pérdida de peso, el deterioro, el ablandamiento y la reducción significativa en la actividad de enzimas degradadoras de la pared celular, de tal manera que se mejoran propiedades como la firmeza y la protección contra reacciones oxidativas [27-32].

El quitosano es un polisacárido lineal derivado de la quitina [33] que posee un amplio rango de aplicaciones, entre las que destacan la estimulación de crecimiento de las plantas, el efecto antimicrobiano y la vinculación con otras moléculas; además, elicitada de manera efectiva el sistema inmune innato de las plantas [34]. Se ha dado cuenta de una gran variedad de actividades biológicas del quitosano, que incluyen tanto su habilidad para inducir mecanismos de resistencia en plantas como sus propiedades fungicidas y bactericidas [35]; asimismo, se ha constatado que activa la elicitación de fitoalexinas [36]. La interacción entre el quitosano y las células vegetales envía una señal que induce respuestas de defensa similares a ataques de patógenos o heridas en las plantas [37]. La aplicación principal del quitosano se relaciona con el desarrollo de películas y recubrimientos por su potencial para prolongar la vida de anaquel en frutas como fresas y arándanos [14], [38]. Por último, se ha reportado que el uso de quitosano puede disminuir el crecimiento de *F. oxysporum* y *B. cinérea* y la pérdida de peso en fruta; además, incrementa la actividad de la enzima PAL [39-41].

METODOLOGÍA

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 subhú-

medo con lluvias en verano. La temperatura media anual es de 16.5 °C, con una precipitación promedio anual de 572 mm.

Material Vegetal

En mayo de 2016 se establecieron plantas de la variedad "Tupi" bajo un sistema de macro-túneles y otro más de riego por goteo con hileras separadas a 2.4 m. entre sí, con una distancia entre plantas de 0.80 m. El manejo general de la parcela se ajustó a los requerimientos de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural para la producción agrícola orgánica y del NOP (*National Organic Program*) del departamento de Agricultura de los Estados Unidos. Durante el ciclo 2019 se realizaron las labores culturales esenciales: poda de activación, nutrición foliar, despunte, riego, poda de rebrote y desyerbe para el mantenimiento y manejo de cultivo.

Aplicación de tratamientos

En primer lugar se realizó la recolección de zarzamoras en su punto de maduración. Luego se seleccionaron frutos sin evidencia de daño mecánico o enfermedad y con un color negro brillante, así como drupas firmes separadas y de fácil desprendimiento ubicadas en partes similares de la planta. Seguidamente se prepararon los tratamientos de ácido salicílico 3 mM (SA, grado reactivo. *J.T. Baker®*, USA.) y quitosano a 0.25 % (CHS, grado técnico, mediano peso molecular. Alzor® Biotechnologies, México) que después se aplicaron mediante inmersión de la fruta durante 5 minutos en las soluciones para que, posteriormente, se dejaran secar y se almacenaran en *clamshells* de PET comerciales. Es necesario especificar que el diseño experimental fue de bloques al azar con 2 tratamientos y un control, cada uno con 4 repeticiones.

Índice de comercialización

Una vez que las zarzamoras se colocaron en *clamshells* de PET comerciales de 6 oz alma-



cenados en aislamiento térmico, se continuó con el monitoreo de temperatura y humedad relativa. Las muestras se mantuvieron entre 0-1 °C y humedad relativa de 90-95 % durante 12 horas. El siguiente paso consistió en la conservación a una temperatura ambiente entre 22-23 °C y humedad relativa de 90-95 % por 84 horas. Durante 96 horas se registraron las variables de respuesta cada 24 horas. El resultado de la unidad experimental con 4 repeticiones fue de 12 zarzamoras. Se seleccionaron tres factores de deterioro para conformar el índice de comercialización: reversión (aparición de coloración roja en las drupas), goteo (el derramamiento del líquido de las drupas) y presencia de micelio (el crecimiento visible de micelio en la superficie de la fruta).

$$IC = 100 - \left[\frac{(\% \text{ reversión} + \% \text{ presencia de micelio} + \% \text{ goteo})}{3} \right] \quad (1)$$

Acto seguido, se calculó el índice de comercialización (IC), expresado como porcentaje con la Ec. (1) de acuerdo a [42]. Después de 96 horas de la aplicación de los tratamientos, se recolectaron muestras de zarzamora sin evidencia de daño mecánico o enfermedad, y de esta manera se hicieron las determinaciones de acidez titulable, sólidos solubles totales y actividad enzimática. Las muestras fueron almacenadas a -70 °C hasta el momento de las determinaciones.

Variabes de calidad

Acidez total titulable (ATT)

Se llevó a cabo con base en la metodología de la AOAC 942.15. Brevemente, se prepararon muestras del jugo de zarzamora que se pesaron y diluyeron con agua destilada. Más tarde se agregó indicador fenolftaleína y se titularon con una solución 0.1 N de hidróxido de sodio. Para terminar, se realizó el cálculo del porcentaje de acidez titulable tomando en cuenta un peso equivalente de ácido cítrico (0.064 g/eq).

Sólidos solubles totales (SST)

La determinación se efectuó con un refractómetro digital (H196801, Hanna Instruments, USA). El porcentaje de sólidos solubles totales fue expresado en grados Brix (° Brix).

Índice de maduración

Se calculó con la fórmula SST/ATT [43], donde SST es igual a Sólidos Solubles totales (° Brix) y ATT equivale a Acidez Total Titulable (% ácido cítrico). Cabe aclarar que las determinaciones se realizaron por triplicado.

Actividad enzimática

Las actividades del superóxido dismutasa (SOD; EC 1.15.1.1), de la catalasa (CAT; EC 1.11.1.6) y de la fenilalanina amonio liasa (PAL; EC 4.3.1.24) fueron determinadas de manera similar a [44], [45] y [46] respectivamente, con algunas modificaciones. Consecuentemente, 500 mg de muestra fueron molidos en frío con 2 a 4 ml de búfer de extracción de fosfato de sodio (pH = 7.8). Posteriormente la muestra fue centrifugada durante 20 minutos a 10,000 rpm y 4 °C. Seguidamente, el sobrenadante fue recolectado como extracto enzimático para las determinaciones de SOD, CAT, PAL y proteína total.

Para la actividad de SOD

Primero se añadieron 0.05 ml de extracto enzimático 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. Durante 20 minutos las muestras fueron expuestas a luz uniforme y se registró la absorbancia a 560 nm. Se concluyó que una unidad SOD (U) es 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

Se inició el procedimiento mezclando 0.3 ml del extracto enzimático 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). Durante 1 minuto se registró la disminución en la absorbancia a 240 nm cada 10 segundos. Se infirió que la unidad CAT equivale a 1 μ mol de H_2O_2 degradado por minuto.

Para la actividad de PAL

Primeramente, se añadió 0.1 ml de extracto enzimático a 1.5 ml de búfer de borato 0.1 M/L-fenilalanina 10 mM (pH = 8.8). El siguiente paso consistió en la incubación de las muestras por 1 hora a 40 °C y se agregaron 0.25 ml de HCl 1 N para detener la reacción. Acto seguido, las muestras se dejaron reposar por 10 minutos a temperatura ambiente; la absorbancia fue registrada a 290 nm y se comparó con una curva de calibración de ácido trans-cinámico. Se comprobó que una unidad PAL es igual a 1 μ mol de ácido trans-cinámico por minuto. Posteriormente, la proteína total fue determinada de acuerdo a [47] mezclando 0.05 ml de extracto enzimático y 1.5 ml de reactivo de Bradford; de la misma forma, la absorbancia se registró a 595 nm y se comparó con una curva de calibración de albúmina. Para finalizar, la actividad enzimática fue expresada en U/mg de proteína para SOD, CAT y PAL.

Análisis de datos

El análisis de datos se llevó a cabo con el software JMP® (Versión 12.1.0) mediante ANOVA de una sola vía. Con los datos obtenidos y utilizando la prueba de comparación de HSD Tukey-Kramer, se efectuaron estudios de diferencias estadísticas significativas entre las variables de respuesta: dureza, acidez titulable, sólidos solubles totales e índice de maduración. A su vez, se realizó una comparación de proporciones con prueba exacta de Fisher para las variables de deterioro;

asimismo, se hizo una prueba t de Student con valores transformados para el índice de comercialización después de 96 horas con $\alpha = 0.05$ (IBM® SPSS Statistics, Versión 25).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Índice de comercialización

Respecto al índice de comercialización, se presentó un comportamiento similar tanto en el tratamiento SA 3 mM como en el control; ambos llegaron al mínimo aceptado antes de las 24 y 72 horas respectivamente. Por su parte, el tratamiento CHS 0.25 % mantuvo el índice de comercialización por encima del mínimo requerido de 85 % por al menos 48 horas, más porcentaje que el grupo control durante las 96 horas del experimento (Fig. 1).

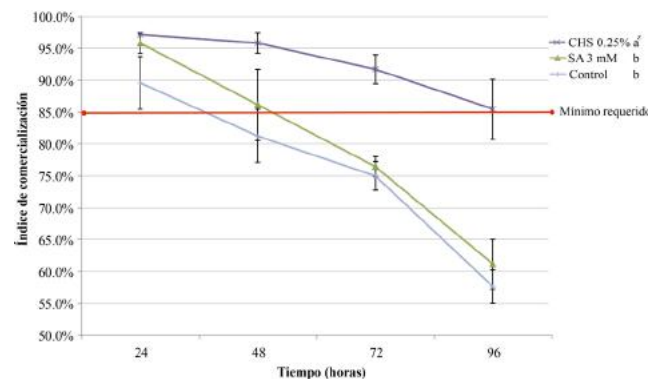


Figura 1. Índice de comercialización durante 96 horas.

^zPrueba t de Student con valores transformados ($1 + \log x$) a las 96 horas, $\alpha = 0.05$.

Letras diferentes indican diferencia significativa entre grupos.

Datos expresados como medias \pm SD. Mínimo requerido 85 %.

Como se puede apreciar, las variables individuales de deterioro no mostraron diferencias significativas entre el tratamiento SA 3 mM y el control. No obstante, el tratamiento CHS 0.25 % indicó una reducción en la incidencia de reversión y goteo. Por lo tanto, se entiende que la reversión influye en las características estructurales, la pérdida de firmeza y la degradación de ciertos compuestos de la pared celular de la zarzamora [48].



En consecuencia, los resultados muestran una tendencia entre la reducción de la incidencia de reversión y la conservación del índice de comercialización de la zarzamora (Tabla 1).

Tabla 1. Porcentaje de factores de deterioro presentes en la fruta 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.

Como se muestra en la tabla 1, la variable de goteo se presentó con mayor porcentaje en el tratamiento de control y SA 3 mM. Lo anterior 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. Es posible que el proceso de inmersión en las soluciones genere un aumento de humedad de la fruta, así como estrés mecánico en el cambio de empaque y proceso de secado.

En la comparación visual se distingue la presencia de factores de deterioro en el control y los tratamientos (Fig 2); el tratamiento CHS 0.25 % fue el más efectivo al reducir la incidencia de goteo y reversión, por otra parte, el tratamiento SA 3 mM no redujo de manera significativa ninguno de los factores de deterioro.

Variables de calidad

Durante el proceso 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 2). A diferencia de estos dos procedimientos, el CHS 0.25 % no presentó alteración en las propiedades organolépticas de la fruta.

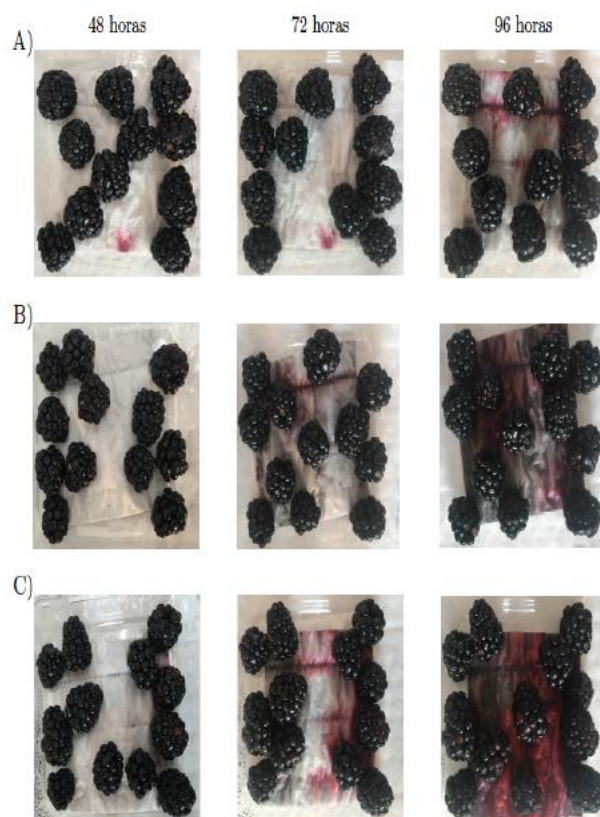


Figura 2. Comparación visual de tratamientos. A) CHS 0.25 %, B) SA 3 mM y C) Control. Horas posteriores al almacenamiento.

Tabla 2. Variables de calidad del fruto.

Tratamiento	Variable		
	Acidez total titulable (% ácido cítrico)	Sólidos solubles totales (°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

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

Datos expresados como medias \pm aE.S.M.

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 refiere un mayor índice de maduración. La tendencia de estos resultados sugiere un mayor contenido de azúcares y, como

consecuencia, una apreciación de un sabor más agradable por parte del consumidor; sin embargo, el tratamiento no logró mantener el índice de comercialización mínimo requerido. Esto apuntaría a que el contenido de azúcares influye en la estabilidad de ciertos compuestos como las antocianinas y su degradación en el fruto [48].

Actividad enzimática

Mientras que 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 % (Tabla 3). De esta manera se constató que la fruta, en proceso de maduración o senescencia, tiene una tasa mayor de conversión de ROS derivado de los procesos oxidativos. Igualmente, se verificó que la actividad de las enzimas SOD y CAT está relacionada al retraso de los procesos de senescencia de los frutos [49], [50]. A su vez, el balance entre la producción de enzimas antioxidantes y la producción de ROS posiblemente causaría estrés oxidativo, debido a los altos niveles de radicales presentes en el ambiente o como subproductos del metabolismo vegetal. Como resultado, los niveles de estas especies químicas tienden a permanecer en valores bajos en condiciones normales [51].

Tabla 3. Actividad enzimática del fruto de zarzamora.

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, $\alpha = 0.05$.

Datos expresados como medias ± E.S.M.

Letras diferentes indican diferencia significativa entre columnas.

Siguiendo con las evidencias, la actividad PAL verificó una disminución con SA 3 mM y se mantuvo con CHS 0.25 %, dicha reducción podría estar relacionada al decrecimiento del

contenido de ácidos orgánicos en la fruta. En el transcurso de maduración de la fruta, el contenido de azúcares solubles aumentó y el de ácidos orgánicos disminuyó de manera natural. Estos resultados nos indican que el tratamiento 3 mM tuvo un efecto de aceleración en el proceso de maduración del fruto de zarzamora. Asimismo, la activación de la ruta fenilpropanoide resulta una respuesta común de las plantas como mecanismo de defensa y puede promover el reforzamiento de la pared celular [52], [53].

El quitosano reduce la actividad de enzimas de degradación de la pared celular [54], en consecuencia, podría influir en la conservación del fruto, lo que sería congruente dados los resultados obtenidos sobre la reversión y goteo de la zarzamora. Ahora bien, las respuestas al tratamiento CHS 0.25 % fueron efectivas para extender la vida útil del fruto de zarzamora sin afectar sus propiedades organolépticas, por otro lado, la técnica SA 3 mM mejoró las variables de calidad del fruto de zarzamora. Las variables organolépticas evaluadas en esta investigación se refieren a las cualidades elementales de composición en el fruto de zarzamora que pueden ser apreciadas por el consumidor. Se podría inferir que la reversión, además de ser una variable importante de calidad durante la comercialización, interviene directamente sobre la vida de anaquel del fruto de zarzamora.

CONCLUSIÓN

La aplicación del tratamiento de quitosano 0.25 % mejoró la vida de anaquel de la zarzamora debido a su acción sobre la actividad enzimática, el metabolismo relacionado a la maduración y la resistencia del fruto a factores de deterioro. Por su parte, el tratamiento SA 3 mM mejoró las características organolépticas de la zarzamora en contraste con un grupo control. De tal manera que se ha demostrado el potencial de los tratamientos para su posible aplicación en la conservación y mejoramiento de la calidad de la zarzamora.



AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Autónoma de Querétaro, al programa A1.S.33677 y a la beca CVU: 500818 del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por su apoyo durante esta investigación.

REFERENCIAS

[1] U. Złotek, M. Swieca, 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] P. Padmanabhan, J. Coreea-Betano, G. Paliyath, "Berries and related fruits," *Encyclopedia of Food and Health*, pp. 364–371, 2016.

[3] T.Y. Wang, Q. Li, K.S. Bi, "Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate," *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 13, pp. 12–23, 2018.

[4] J. Zhao, L. C. Davis, R. Verpoorte, "Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites," *Biotechnology advances*, vol. 23, pp. 283–333, 2005.

[5] O. Paredes-López, M. L. Cervantes-Ceja, M. Vigna-Pérez, T. Hernández-Pérez, "Berries: improving human health and healthy aging, and promoting quality life—a review," *Plant foods for human nutrition*, vol. 65, pp. 299–308, 2010.

[6] J.C. Pech, E. Purgatto, M. Bouzayen, A. Latché, "Ethylene and fruit ripening," *Annual Plant Reviews online*, pp. 275–304, 2018.

[7] M. Benichou, J. Ayour, M. Sagar, A. Alahyane, I. Elateri, A. Aitoubahou, "Postharvest technologies for shelf life enhancement of temperate fruits," in: *Postharvest Biology and Technology of Temperate Fruits*, Springer, pp. 77–100, 2018.

[8] J. C. De la Vega, M. A. Cañarejo, N. S. Pinto, "Avances en tecnología de atmósferas controladas y sus aplicaciones en la industria. Una revisión," *Información tecnológica*, vol. 28, pp. 75–86, 2017.

[9] M. Sousa-Gallagher, A. Tank, R. Sousa, "Emerging technologies to extend the shelf life and stability of fruits and vegetables," in: *The Stability and Shelf Life of Food*, Elsevier, pp. 399–430, 2016.

[10] R. P. Singh, B. Anderson, "The major types of food spoilage: an overview," *Understanding and Measuring the Shelf-life of Food*, pp. 3–23, 2004.

[11] K. Manning, "Isolation of a set of ripening-related genes from strawberry: their identification and possible relationship to fruit quality traits," *Planta*, vol. 205, pp. 622–631, 1998.

[12] A. T. Chávez-Bárceñas, C. Alonso-Ojeda, 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, pp. 143–157, 2012.

[13] M. C. Martínez-Ballesta, L. López-Pérez, M. Hernández, C. López-Berenguer, N. Fernández-García, M. Carvajal, "Agricultural practices for enhanced human health," *Phytochemistry Reviews*, vol. 7, pp. 251–260, 2008.

[14] H. Barikloo, E. Ahmadi, "Shelf life extension of strawberry by temperatures conditioning, chitosan coating, modified atmosphere, and clay and silica nanocomposite packaging," *Scientia Horticulturae*, vol. 240, pp. 496–508, 2018.

[15] Y. Shen, H. Yang, "Effect of preharvest chitosan-g-salicylic acid treatment on postharvest table grape quality, shelf life, and resistance to *Botrytis cinerea*-induced spoilage," *Scientia Horticulturae*, vol. 224, pp. 367–373, 2017.

[16] R. Wills, B. McGlasson, D. Graham, D. Joyce, J. W. Rushing, "Postharvest: an introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals," *Journal of vegetable crop production*, vol. 4, pp. 83–84, 1999.

[17] R. Paull, "Effect of temperature and relative humidity on fresh commodity quality," *Postharvest biology and technology*, vol. 15, pp. 263–277, 1999.

[18] A. Namdeo, "Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review," *Pharmacognosy Reviews*, vol. 1, no. 1, pp. 69–79, 2007.

- [19] N. Garg, G. Manchanda, "ROS generation in plants: boon or bane?," *Plant Biosystems* vol. 143, pp. 81–96, 2009.
- [20] L. Taiz, E. Zeiger, "Plant physiology" Sinauer associates, Inc., Sunderland, MI, 2006.
- [21] M. Vázquez-Hernández, I. Parola-Contreras, L. Montoya-Gómez, I. Torres-Pacheco, D. Schwarz, R. Guevara-González, "Eustressors: Chemical and physical stress factors used to enhance vegetables production," *Scientia Horticulturae*, vol. 250, pp. 223–229, 2019.
- [22] H. Kessmann, T. Staub, J. Ligon, M. Oostendorp, J. Ryals, "Activation of systemic acquired disease resistance in plants," *European Journal of Plant Pathology*, vol. 100, pp. 359–369, 1994.
- [23] M. Asghari, M. S. Aghdam, "Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural crops," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 21, pp. 502–509, 2010.
- [24] 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, pp. 250–254, 2012.
- [25] W. E. Durrant, X. Dong, "Systemic acquired resistance," *Annu. Rev. Phytopathol.* vol. 42, pp. 185–209, 2004.
- [26] L. C. van Loon, M. Rep, C. M. Pieterse, "Significance of inducible defense-related proteins in infected plants," *Annu. Rev. Phytopathol.* vol. 44, pp. 135–162, 2006.
- [27] L. Peng, Y. Jiang, "Exogenous salicylic acid inhibits browning of fresh-cut chinese water chestnut," *Food Chemistry*, vol. 94, pp. 535–540, 2006.
- [28] X. Lu, D. Sun, Y. Li, W. Shi, G. Sun, "Pre-and post-harvest salicylic acid treatments alleviate internal browning and maintain quality of winter pineapple fruit," *Scientia Horticulturae*, vol. 130, pp. 97–101, 2011.
- [29] M. Shafiee, T. Taghavi, 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, pp. 40–45, 2010.
- [30] B. M. Moreno, R. G. Rizzolo, C. de Moraes Fagundes, A. Bender, L. E. C. Antunes, "Efeito do ácido salicílico na pré-colheita de amora preta cv. tupy.," *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 16, 234–239, 2015.
- [31] A. Lo'ay, "Preharvest salicylic acid and delay ripening of 'superior seedless' grapes," *Egyptian journal of basic and applied sciences*, vol. 4, pp. 227–230, 2017.
- [32] A. Lo'ay, 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.
- [33] M. Aider, "Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry," *LWT food science and technology*, vol. 43, pp. 837–842, 2010.
- [34] H. Yin, X. Zhao, Y. Du, "Oligochitosan: a plant diseases vaccine—a review," *Carbohydrate Polymers*, vol. 82, pp. 1–8, 2010.
- [35] M. Rinaudo, "Chitin and chitosan: properties and applications," *Progress in polymer science*, vol. 31, pp. 603–632, 2006.
- [36] T. Wu, S. Zivanovic, F. A. Draughon, W. S. Conway, C. E. Sams, "Physicochemical properties and bioactivity of fungal chitin and chitosan," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 53, pp. 3888–3894, 2005.
- [37] W. Lin, X. Hu, W. Zhang, W. J. Rogers, W. Cai, "Hydrogen peroxide mediates defence responses induced by chitosans of different molecular weights in rice," *Journal of Plant Physiology*, vol. 162, pp. 937–944, 2005.
- [38] X. Sun, J. Narciso, Z. Wang, C. Ference, J. Bai, K. Zhou, "Effects of chitosan-essential oil coatings on safety and quality of fresh blueberries," *Journal of food science*, vol. 79, pp. M955–M960, 2014.
- [39] S. Bautista-Baños, M. Hernández-López, E. Bosquez-Molina, "Growth inhibition of selected fungi by chitosan and plant extracts," *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 22, pp. 178–186, 2004.
- [40] P. Hernández-Muñoz, E. Almenar, M. J. Ocio, R. Gavara, "Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of



strawberries (*Fragaria x ananassa*)", *Postharvest Biology and Technology*, vol. 39, pp. 247–253, 2006.

[41] S. Silva Júnior, N. Stamford, M. Lima, T. Arnaud, M. Pintado, 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*, vol.7, pp. 31–38, 2014.

[42] J. R. Clark, P. Perkins-Veazie, "'APF-45' primocane-fruited blackberry," *HortScience*, vol. 46, pp. 670–673, 2011.

[43] M. Mikulic-Petkovsek, D. Koron, Z. Zorc, R. Veberic, "Do optimally ripe blackberries contain the highest levels of metabolites?," *Food chemistry*, vol. 215, pp. 41–49, 2017.

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

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

[46] 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, pp. 111–123, 1984.

[47] 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*, vol. 72, pp. 248–254, 1976.

[48] M. Edgley, D. Close, P. Measham, D. Nichols, "Physiochemistry of blackberries (*Rubus l.* subgenus *Rubus watson*) affected by red drupelet reversion," *Postharvest Biology and Technology*, vol. 153, pp. 183–190, 2019.

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

[50] M. K. Saba, S. Moradi, "Internal browning disorder of eight pear cultivars affected by bioactive constituents and enzyme activity,"

Food chemistry, vol. 205, pp. 257–263, 2016.

[51] 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*, vol. 143, pp. 68–77, 2018.

[52] E. Haslam, "Plant polyphenols (Syn. Vegetable Tannins) and chemical defense—a reappraisal," *Journal of Chemical Ecology*, vol.14, pp. 1789–1805, 1988.

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

[54] Y. He, S. K. Bose, M. Wang, T. Liu, W. Wang, H. Lu, H. Yin, "Effects of chitosan oligosaccharides postharvest treatment on the quality and ripening related gene expression of cultivated strawberry fruits," *Journal of Berry Research*, vol. 9, pp. 11–25, 2019.