



EFECTO DEL METIL-JASMONATO SOBRE LOS DAÑOS POR FRÍO EN BERENJENA

Trabajo de Fin de Grado realizado por la alumna del Grado en Biotecnología de la Facultad de Ciencias Experimentales,

Gema Godoy Beltrán

Dpto. de Biología y Geología de la Universidad de Almería.

Directores:

Dr. Juan Luis Valenzuela Manjón-Cabeza

Dña. Yessica Iglesias Moya

2019/2020

AGRADECIMIENTOS

Llegado este momento, meta de múltiples sueños y anhelos, me paro a pensar qué y quienes han sido mis apoyos, mis baluartes, mis ejemplos de vida y no puedo imaginar otra forma de llegar a donde he llegado.

Tengo la certeza de que la Universidad de Almería es el lugar donde tenía que estar. Aquí he conocido a las personas que desde el punto de vista académico y humano han contribuido a mi formación y han sembrado en mí la semilla de la inquietud por el saber, por preguntarme qué hay más allá de lo evidente. Por ello, quiero agradecer a todos mis profesores su dedicación, paciencia e ilusión por enseñar.

Tengo un especial recuerdo de mis profesores y compañeros de la *Alexandru Ioan Cuza Universitatea din Iași*, Rumanía. Ellos me han enseñado que la pasión y el trabajo es la fuerza más poderosa para superar cualquier tipo de barrera y alcanzar cualquier objetivo.

No puedo dejar fuera de este agradecimiento, como no puede ser de otra forma, a todos mis compañeros y amigos que han estado ahí en momentos difíciles y no tan difíciles, que han sabido entenderme y apoyarme sin esperar nada a cambio. En especial, una persona que ocupa un hueco importante en mi vida y que espero sea así por siempre, Juan.

Por último, y no menos importante, agradecer a mi hermano y a mis padres su lucha y su perseverancia por ver en mí lo que nadie ha llegado a ver desde que era una niña, teniendo certeza que siempre alcanzaría cualquier sueño que fuese capaz de soñar.

Felix qui potuit rerum cognoscere causas,

Virgilio.

RESUMEN

La berenjena (*Solanum melongena* L.) es una planta procedente de las zonas tropicales y subtropicales asiáticas, principal motivo por el que es tan sensible a los daños por frío. Los daños por frío son un desorden fisiológico originado por la exposición de los productos hortofrutícolas a temperaturas inferiores a un mínimo crítico, pero superiores a su punto de congelación. La berenjena es un producto hortofrutícola de gran interés económico en la provincia almeriense, de modo que hay un gran interés en conocer cómo combatir y aliviar los síntomas ocasionado por los daños por frío. Los daños por frío en berenjena se manifiestan con el pardeamiento de las semillas y la pulpa, la decoloración del cáliz, infección por *Alternaria tenuis* y las depresiones o heridas conocidas como *pitting*. Para evitar las lesiones por frío en los frutos de berenjenas, son almacenadas a una temperatura de entre 10 °C y 12 °C con un 90% o 95% de humedad relativa. Aun así, hay tratamientos físicos y químicos que se aplican durante la precosecha y las poscosecha para reducir los daños por frío. Dentro de los tratamientos químicos, se destaca la aplicación del metil-jasmonato y su capacidad para aliviar los síntomas generados por las bajas temperaturas en la berenjena. El metil-jasmonato induce las proteínas de choque térmico o chaperonas que aumentan la tolerancia de los productos hortofrutícolas a los cambios bruscos de temperatura; y promueve la actividad de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), la guayacol peroxidasa (G-POD), la ascorbato peroxidasa (APX), la glutatión reductasa (GR), la monodehidroascorbato reductasa (MDHAR) y la dehidroascorbato reductasa (DHAR); y de potentes antioxidantes no enzimáticos como el ascorbato (AsA), el glutatión (GSH), los carotenoides, los tocoferoles y los fenoles, que reducen el estrés oxidativo generado por el daño en las membranas debido a las bajas temperaturas. Por último, muchos estudios han demostrado cómo la producción de variedades transgénicas mediante procedimientos biotecnológicos presenta un gran potencial para prevenir y aliviar los daños por frío, y es muy posible que las investigaciones futuras se centren en la producción de variedades de berenjena modificadas genéticamente debido a que es un campo muy inexplorado en este fruto y con un gran potencial debido a su eficacia, precisión y respeto por el medio ambiente.

ABSTRACT

Eggplant (*Solanum melongena* L.) is a plant of asiatic tropical and subtropical regions origin, the main reason why it is so sensitive to chilling injury. Chilling injury is a physiological disorder caused by exposure of fruit and vegetable products to temperatures below a critical minimum, but above their freezing point. The eggplant is a vegetable of great economic interest in the province of Almería, so there is great interest in knowing how to combat and relieve the symptoms caused by chilling injury. Chilling injury in eggplants is manifested by browning of the seeds and pulp, discoloration of the calyx, infection by *Alternaria tenuis* and depressions or wounds which are known as pitting. To avoid chilling injury in eggplants fruits, they must be stored at temperatures between 10 °C and 12 °C with 90% or 95% of relative humidity. However, there are physical and chemical treatments that are applied during pre-harvest and post-harvest to reduce chilling injury. Among the chemical treatments, the application of methyl jasmonate and its ability to alleviate the symptoms generated by low temperatures in eggplants are noteworthy. Methyl jasmonate induces heat shock proteins that increase the tolerance of fruit and vegetable products to sudden changes in temperature; and promotes the activity of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiac peroxidase (G-POD), ascorbate peroxidase (APX), glutathione reductase (GR), monodehydroascorbate reductase (MDHAR) and dehydroascorbate reductase (DHAR); and powerful non-enzymatic antioxidants such as ascorbate (AsA), glutathione (GSH), carotenoids, tocopherols and phenols, which reduces oxidative stress generated by membrane damage due to low temperatures. Finally, many studies have shown how the production of transgenic varieties using biotechnological methods has great potential to prevent and alleviate chilling injury, and future research may well focus on the production of genetically modified eggplant varieties because it is a very unexplored field in this fruit and has great potential due to its efficiency, precision and respect for the environment.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

OBJETIVOS	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
1. MATERIAL VEGETAL DE ESTUDIO	1
1.1 Caracteres botánicos y fisiológicos	2
1.2 Fruto inmaduro	3
2. DAÑOS POR FRÍO (DF)	6
2.1 Síntomas	8
2.2 Causas fisiológicas	13
2.3 Fases	14
2.4 Aclimatación o endurecimiento	15
2.5 ¿Induce la muerte celular programada (PCD)?	15
2.6 Tratamientos	16
3. TRATAMIENTO CON METIL-JASMONATO EN BERENJENA	23
3.1 Ruta de biosíntesis	23
3.2 Mecanismo de acción	25
3.3 Efectos fisiológicos desencadenados en respuestas a las bajas temperaturas	27
3.4 Casos experimentales	28
4. APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS	38
5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS DE FUTURO	40
BIBLIOGRAFÍA	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sección longitudinal (a) y transversal (b) del fruto <i>Solanum melongena</i> L. (Mannino, 1987)..3	3
Figura 2. <i>Pitting</i> en berenjena (Cantwell y Suslow, 2005).8	8
Figura 3. Pardeamiento de la pulpa en berenjena (Cantwell y Suslow, 2005).....9	9
Figura 4. <i>Pitting</i> e infección por <i>Botrytis</i> (cáliz) en berenjena debido a <i>chilling injury</i> (Cantwell y Suslow, 2005).10	10
Figura 5. Daño ultraestructural en tejido de berenjena analizado por TME o microscopía electrónica de transmisión tras la cosecha. CT = citoplasma; CW = pared celular; ML = lámina media; PW = pared celular primaria; T = tonoplasto; V = vacuola. A) Células turgentes, muy apretadas entre sí, con paredes celulares muy delgadas, con grandes vacuolas, tonoplastos intactos y citoplasmas periféricos confinados en una capa estrecha adyacente a la pared celular; B) Lámina media muy visible (región densa en electrones) (Concellón y col., 2007).....12	12
Figura 6. Daño ultraestructural en tejido de berenjena analizado por TME o microscopía electrónica de transmisión tras 6 días a 0 °C. CT = citoplasma; CW = pared celular; I = espacios intercelulares; ML = lámina media; PM = membrana plasmática; PW = pared celular primaria; V = vacuola. C) Grandes espacios intercelulares; D) La membrana plasmática y el citoplasma se encuentran separados de la pared celular (Concellón y col., 2007).....12	12
Figura 7. Daño ultraestructural en tejido de berenjena analizado por TME o microscopía electrónica de transmisión tras 15 días a 0 °C. CT = citoplasma; CW = pared celular; I = espacios intercelulares; PM = membrana plasmática; O = orgánulos. E); Alteración celular; F) Contracción del citoplasma y la membrana plasmática, y dispersión del material celular; G). Contorno y grosor celular irregular, y dispersión del material celular (Concellón y col., 2007).12	12
Figura 8. Esquema de los eventos que desencadenan los daños por frío o <i>chilling injury</i> en los productos hortofrutícolas (Lyons, 1973 en Saltveit, 2003).....13	13
Figura 9. Pasos iniciales propuestos para el mecanismo de PCD o muerte celular programada en <i>chilling injury</i> (Kratsch y Wise, 2000).16	16
Figura 10. Diagrama esquemático de la biosíntesis y el metabolismo del ácido jasmónico en respuesta al estrés (Sarafat-Ali y Kwang-Hyun, 2020).25	25
Figura 11. Percepción del ácido jasmónico y transducción de señales durante situaciones de estrés (Sarafat-Ali y Kwang-Hyun, 2020).....27	27
Figura 12. Mecanismo general de respuesta al MeJA (MJ) (Ho y col., 2020).28	28
Figura 13. Perfil transcripcional de los genes <i>SmePPO1-6</i> inducidos de forma diferencial por el MeJA y el SA. Plántulas de berenjena fueron tratadas con 1 mM SA / 0.1 Mm MeJA / 1 mM SA + 0.1 Mm MeJA durante 5 horas, se extrajo su ARN y se realizó una RT-PCR semicuantitativa tomando el gen de la tubulina como control (Shetty y col., 2012).37	37
Figura 14. Modelo propuesto para la supresión mediada por el SA de los genes <i>SmePPO1-6</i> inducidos por el MeJA (Shetty y col., 2012).38	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Análisis provincial de superficie y producción de berenjena en Andalucía 2018 (Anuario de Estadística Agraria).	2
Tabla 2. Taxonomía de la berenjena (Mannino, 1987).	3
Tabla 3. Límites fisiológicos de temperatura para la inducción de los daños por frío.	7

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Evolución de la superficie cultivada con berenjena en España en miles de hectáreas (Anuario de Estadística Agraria).....	2
Gráfico 2. Curva de los patrones de respiración de frutos climatéricos y no climatéricos a medida que los vegetales maduran (Saltveit, 2004 en Toivonen, 2011).	4
Gráfico 3. Evolución del I.D.F. (índice de los daños por frío) superficie durante la frigoconservación a 8 °C de las variedades de berenjena <i>Erica</i> (más resistente) y <i>Thelma</i> (más sensible) (Simón-Torres, 2011).	7
Gráfico 4. Evolución de la firmeza (expresada en grados <i>Durofel</i>) durante la frigoconservación a 8 °C de las variedades de berenjena <i>Erica</i> (mayor pérdida de firmeza) y <i>Thelma</i> (menor pérdida de firmeza) (Simón-Torres, 2011).	10
Gráfico 5. Fases de los daños por frío (Romojaro-Casado, 2016).	14
Gráfico 7. Producción de etileno y pardeamiento del cáliz en frutos tratados y no tratados con MeJA y conservados a 20 °C durante 10 días (Fan y col., 2016).....	31
Gráfico 8. Actividad de CAT y POD en frutos tratados y no tratados con MeJA y conservados a 20 °C durante 10 días (Fan y col., 2016).....	31
Gráfico 9. Porcentaje de pérdida de peso y firmeza de frutos tratados y no tratados con MeJA o SA almacenados o no a 4 °C (Carrera-Cabanzo, 2016)	32
Gráfico 10. Porcentaje de pérdida de peso y firmeza de frutos tratados y no tratados con MeJA o SA almacenados o no a 4 °C (Carrera-Cabanzo, 2016)	33
Gráfico 11. Pardeamiento del cáliz, contenido en clorofila y el índice de daños por frío de los frutos control, LTC y LTC + MeJA almacenados a 4 °C (Shi y col., 2019).	34
Gráfico 12. Contenido de MDA del cáliz y la pulpa de los frutos control, LTC y LTC + MeJA almacenados a 4 °C (Shi y col., 2019).	34
Gráfico 13. Contenido de compuestos fenólicos del cáliz y la pulpa de los frutos control, LTC y LTC + MeJA almacenados a 4 °C (Shi y col., 2019)	35

OBJETIVOS

En el presente Trabajo Fin de Grado se ha realizado una revisión bibliográfica exhaustiva con el fin de comprender y analizar cómo afectan los daños por frío al fruto de la especie *Solanum melongena* L. De igual modo, se ha analizado el impacto del tratamiento con metil-jasmonato en la reducción de los síntomas ocasionados por temperaturas inferiores a un mínimo crítico.

Para ello se realizó una investigación en la que se estudiaron los siguientes aspectos:

- Las características más representativas de la berenjena que puedan generar algún tipo de efecto influyente sobre el desarrollo de los daños por frío.
- La definición, los síntomas, las causas, las fases, los tratamientos y los procesos biológicos que desencadenan los daños por frío y su aplicación en berenjena.
- La ruta de biosíntesis, el mecanismo de acción y los efectos fisiológicos que generan el ácido jasmónico y su éster metílico el metil-jasmonato.
- Casos experimentales que demuestren la efectividad del metil-jasmonato.
- Aplicaciones biotecnológicas, conclusiones y perspectivas de futuro.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

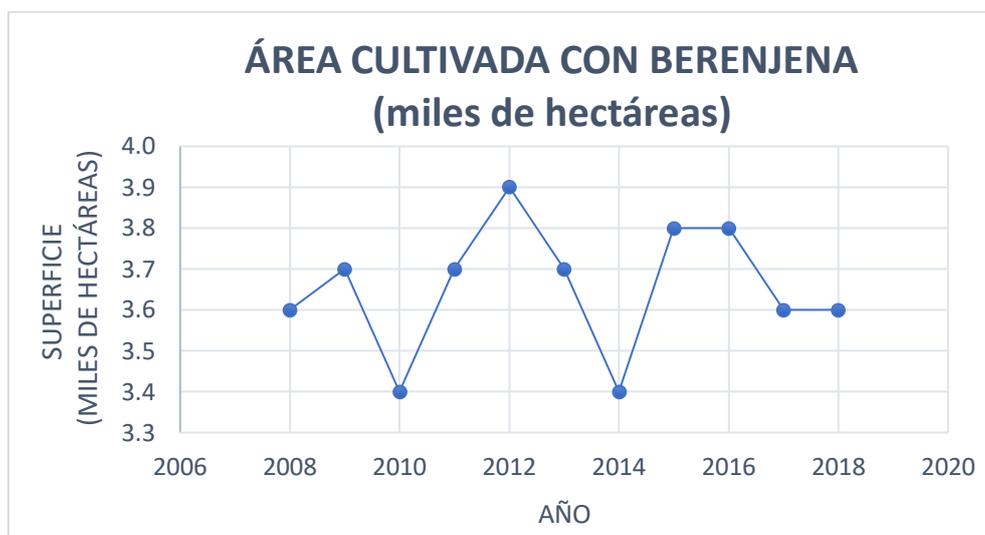
1. MATERIAL VEGETAL DE ESTUDIO

La berenjena (*Solanum melongena* L.) es originaria de zonas tropicales y subtropicales asiáticas, principal motivo por el que es tan sensible a las bajas temperaturas causantes de los “daños por frío” o “chilling injury” (Concellón y col., 2004). Probablemente el área de origen se encontraba en la India y China, países en los que el cultivo de la berenjena se remonta a tiempos antiguos, y en Egipto, lugar en el que esta especie ya se cultivaba en el siglo XIII. Los primeros indicios de la plantación de este cultivo en Europa, probablemente importado y difundido por los árabes a través de todas las regiones del Mediterráneo, datan del siglo XVI y en España fue introducido alrededor del siglo XIV (Mannino, 1987).

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) afirma que la superficie cultivada con berenjena a nivel mundial es de 1.864.556 ha, siendo los mayores productores China (803.303 ha) e India (736.000 ha). Europa está ubicada como la cuarta productora a nivel mundial con 33.511 ha, tras Asia (1.718.965 ha), América (12.753 ha) y África (99.180 ha). España se sitúa como tercera productora de berenjena de la Unión Europea (26.546 ha), tras Italia (9.560 ha) y Rumanía (9.025 ha) (FAOSTAT, 2018).

Según el *Análisis provincial de superficie, rendimiento y producción* realizado en 2018 por el Anuario de Estadística Agraria, la berenjena ocupa en España una superficie de 3.619 ha, de las cuales 5 ha son de secano, 910 ha son de regadío al aire libre y 2.704 ha son de regadío protegido.

Gráfico 1. Evolución de la superficie cultivada con berenjena en España en miles de hectáreas (Anuario de Estadística Agraria).



Respecto al panorama nacional, Andalucía es la comunidad autónoma que mayor superficie dedica al cultivo de la berenjena con 2.647 ha y la que tiene una mayor producción con 197.179 toneladas, siendo Almería, en comparación con el resto de las provincias andaluzas, también la que dedica una mayor superficie al cultivo de este fruto con 2.209 ha y presenta una mayor producción con 181.130 toneladas (Anuario de Estadística Agraria, 2018).

Tabla 1. Análisis provincial de superficie y producción de berenjena en Andalucía 2018 (Anuario de Estadística Agraria).

PROVINCIA	SUPERFICIE (ha)	PRODUCCIÓN (toneladas)
Almería	2.209	181.130
Cádiz	161	4.505
Córdoba	4	110
Granada	87	3.706
Huelva	7	175
Jaén	41	820
Málaga	136	6.680
Sevilla	2	53
Total	2.647	197.179

1.1 Caracteres botánicos y fisiológicos

La berenjena (*Solanum melongena* L.) es una especie vegetal que taxonómicamente está clasificada del siguiente modo:

Tabla 2. Taxonomía de la berenjena (Mannino, 1987).

CLASE	<i>Dicotyledones</i>
SUBCLASE	<i>Sympetales</i>
ORDEN	<i>Tubiflorae</i>
FAMILIA	<i>Solanaceae</i>
TRIBU	<i>Solaneae</i>
GÉNERO	<i>Solanum</i>
ESPECIE	<i>Solanum melongena</i> L.

La especie *Solanum melongena* L. está dividida en tres variedades botánicas: *S. melongena* var. *esculentum* (Dun.), *S. melongena* var. *ovigerum* Lam. (Dun.) y *S. melongena* var. *insanum* (Dun.). Entre ellas, la variedad *esculentum* reviste el mayor interés agrícola y económico, derivando de ella los cultivos más notables y difundidos; de la variedad *insanum* derivan, sin embargo, los cultivos de escasa importancia caracterizados por producciones modestas y poco apreciadas; la variedad botánica *ovigerum* derivan cultivos y tipos ornamentales, caracterizados por la presencia de flores y por pequeños y numerosos frutos (Mannino, 1987).

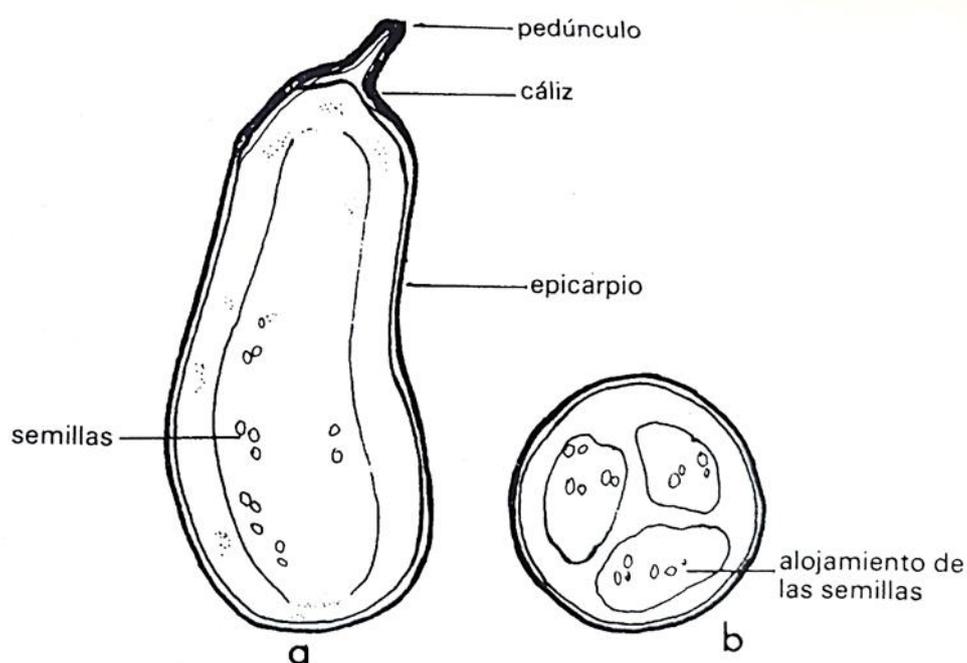


Figura 1. Sección longitudinal (a) y transversal (b) del fruto *Solanum melongena* L. (Mannino, 1987).

1.2 Fruto inmaduro

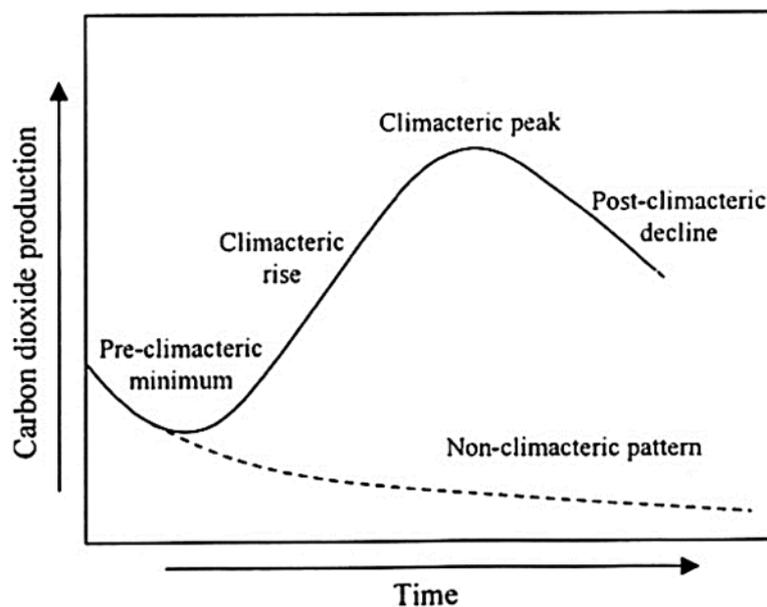
Los frutos inmaduros son hortalizas producidas por especies dicotiledóneas de gran importancia económica dentro de la familia *Cucurbitaceae* (calabazas, pepinos, calabacines, calabazas y luffa), *Solanaceae* (berenjenas y pimientos), *Fabaceae* (guisantes y habas) y *Malvaceae* (quimbombó) (Valenzuela y col., 2017), además son especies herbáceas y anuales de origen subtropical o tropical, que aportan vitaminas y otros aditivos no nutritivos que son beneficiosos para la dieta humana. La berenjena es un fruto carnoso con un contenido en agua relativamente alto y muy pocas calorías, que

es rico en polifenoles, incluyendo el ácido hidroxicinámico y su derivado el ácido clorogénico que presentan una potente capacidad antioxidante (Singh y col., 2009; Mohammed y Brecht, 2003). Asimismo, es una excelente fuente de pigmentos naturales y otros compuestos antioxidantes como la clorofila a, la clorofila b y el ascorbato (Blanco-Díaz y col., 2015).

Es considerado un fruto no climatérico puesto que no experimenta un aumento de la tasa respiratoria acompañado de un pico en la producción de etileno autocatalítico. En berenjena la tasa de respiración es baja o moderada (Kader, 1992 en Mohammed y Brecht, 2003).

La respiración puede ser controlada por factores como la temperatura y la composición de la atmósfera, ya que la velocidad de los procesos metabólicos se incrementa en un factor de dos por cada 10 °C. Por lo tanto, las tasas de respiración pueden reducirse al disminuir la temperatura del fruto, aunque los frutos inmaduros no se adaptan al almacenamiento a largo plazo porque son susceptibles a los daños por frío (Valenzuela y col., 2017).

Gráfico 2. Curva de los patrones de respiración de frutos climatéricos y no climatéricos a medida que los vegetales maduran (Saltveit, 2004 en Toivonen, 2011).



Los frutos son susceptibles a sufrir daños por frío cuando se almacenan a temperaturas bajas sin llegar al punto de congelación (Mohammed y Brecht, 2003). Para evitar las lesiones por frío en los frutos de berenjena, son almacenados a una temperatura de entre 10 °C y 12 °C con un 90% o 95% de humedad relativa (Siller-Cepeda, 2016). Los daños por frío en berenjena se manifiestan con el pardeamiento de las semillas y la pulpa, la decoloración del cáliz, *Alternaria rot* o infección por *Alternaria tenuis* y las depresiones o heridas conocidas como *pitting*, que son debidas al colapso de las células del parénquima localizado bajo la epidermis (Carrera y col., 2016).

Se encuentran entre las hortalizas más perecederas por varias razones (Mohammed y Brecht, 2003). Su epidermis aún no está completamente desarrollada y se cosechan en una fase de desarrollo en la que no se han acumulado suficientes compuestos de almacenamiento. Además, sus elevadas tasas de respiración, asociadas a las altas tasas de deshidratación y metabólicas, provocan un rápido deterioro durante el proceso de almacenamiento de estos frutos (Toivonen, 2011). Por otro lado, los frutos de berenjena son muy susceptibles a la pérdida de agua debido a que presentan una cutícula y una capa epidérmica relativamente delgadas. Esto último, se relaciona una mayor susceptibilidad al daño

mecánico, lo que puede provocar la rotura de la cutícula, permitiendo así que se produzca una pérdida de agua acelerada (Mohammed y Brecht, 2003). El primer síntoma asociado a la deshidratación de la fruta es la marchitez. En pepino, se ha demostrado que la deshidratación también regula la actividad de las enzimas que degradan las paredes celulares como la poligalacturonasa y la pectinesterasas, lo que produce que el fruto se ablande y se marchite, asimismo, la pérdida de agua aumenta la producción de etileno (Valenzuela y col., 2017). La pérdida de agua puede controlarse con un rápido y adecuado preenfriamiento, y con el proceso de humidificación durante el almacenamiento del fruto, Sin embargo, en verduras sensibles a la refrigeración como ocurre con los frutos inmaduros, el control de la pérdida de agua es más difícil ya que estos deben ser almacenados a temperaturas más cálidas, por lo que están expuestos a un mayor potencial de pérdida de agua. En definitiva, hay que destacar tres puntos importantes en relación con la gestión de la temperatura y la pérdida de agua (Toivonen, 2011): 1) El producto caliente pierde agua a un ritmo más rápido que cuando se coloca en una cámara frigorífica, por lo que es muy importante preenfriar rápidamente los frutos antes de almacenarlos; 2) El retraso en el proceso de preenfriamiento provocará una pérdida de agua innecesaria en los frutos, por lo que el retraso desde la cosecha hasta el preenfriamiento debe ser lo más breve posible; 3) Las temperaturas de almacenamiento más frías y los niveles de humedad más altos reducirán al mínimo la pérdida de agua de un fruto.

La calidad y la vida poscosecha de los frutos inmaduros están condicionadas tanto por la etapa de desarrollo como por la elección del momento de cosecha (Toivonen, 2011). En frutos maduros, estos índices están relacionados con el máximo crecimiento y la maduración completa del fruto, proceso necesario para que adquieran unas cualidades organolépticas óptimas (Pareek, 2016). En cambio, en fruto inmaduros, el parámetro clave es el tamaño del fruto. Aunque, la decisión de cosechar debe implicar una conciencia de la relación entre el tamaño del fruto y la etapa de desarrollo de este, que puede llegar a diferir entre las variedades de una misma especie (Mohammed y Brech, 2003). Los frutos inmaduros se deben cosechar hasta justo antes de que las semillas se agranden y se endurezcan (Montero-Calderón y Cerdas-Araya, 2012).

La forma, la firmeza, el color morado oscuro, el tamaño, el brillo externo, el secado del cáliz, la ausencia de defectos de crecimiento o manipulación y el grado de descomposición son parámetros comunes utilizados para definir los índices de cosecha y la calidad de las berenjenas. Las berenjenas se cosechan antes de alcanzar su tamaño completo, sin embargo, hay una amplia gama de etapas ontogénicas en las que podrían comercializarse (Zaro y col., 2014; Siller-Cepeda, 2016).

Los frutos berenjena experimentan cambios morfológicos y de composición muy rápidos, por lo que el rango de cosecha es extremadamente estrecho, y la sobremadurez de estos cultivos conduce a cambios negativos que reducen su vida útil y su calidad, como el amarillamiento, el endurecimiento, la fibrilación y el sabor amargo. Por lo tanto, es fundamental evitar lesiones durante la cosecha a fin de reducir al mínimo los efectos negativos que pueden provocar estos daños, entre los que incluimos la aceleración de la tasa respiratoria, la pérdida de agua, las reacciones de oscurecimiento oxidativo y el aumento del potencial de decadencia (Mohammed y Brech, 2003). En el caso de los frutos de berenjena, si están demasiado maduros se vuelven picantes y amargos (Siller-Cepeda, 2016). En cambio, si las berenjenas están inmaduras, se arrugan y se ablandan rápidamente, reduciendo su vida útil (Mohammed y Brech, 2003).

Los desórdenes fisiológicos asociados a los frutos inmaduros están relacionados con el estrés por temperatura (congelación, enfriamiento, lesiones por calor) y la exposición al etileno. La congelación está relacionada con el contenido de agua, por consiguiente, es más preocupante para frutos inmaduros carnosos que para los de semilla. La lesión solar (escaldadura solar) es más probable que ocurra en las berenjenas debido a su baja relación superficie/volumen y una cutícula muy bien desarrollada que limita el enfriamiento por evaporación. Por estas mismas razones, el movimiento de calcio en las berenjenas puede estar limitado, produciendo una carencia de calcio y la putrefacción del extremo de la flor (Mohammed y Brecht, 2003).

El etileno es un regulador natural que afecta en la evolución de la maduración y la senescencia de los frutos y sus efectos pueden ser tanto beneficiosos como perjudiciales dependiendo del fruto, de su estado de maduración y de su uso (Poyesh, 2018). Por este motivo, el control de los procesos de biosíntesis y de insensibilidad al etileno suponen un factor clave en la mejora de la vida poscosecha y la calidad de los frutos (Blankenship y Dole, 2003).

Al igual que con el proceso de respiración, existe una amplia gama de tasas de producción de etileno entre los distintos frutos y también diferencias en la sensibilidad relativa al etileno. La berenjena presenta una baja tasa de producción de etileno y una sensibilidad relativa media al etileno, por lo que un nivel de exposición a etileno exógeno de forma continuada podría reducir su vida poscosecha y su calidad (Toivonen, 2011).

Adel A. Kader explicó en el taller de “*Maduración de la Fruta y Manejo del Etileno*” del Centro de Tecnología Poscosecha de la Universidad de California que tiene lugar en primavera:

“El etileno acelera la degradación de la clorofila e induce el amarillamiento de los tejidos verdes, reduciendo la calidad de los frutos inmaduros. Asimismo, induce la abscisión de hojas y flores, el ablandamiento de frutos y otros diversos trastornos fisiológicos. En berenjena los síntomas de daños por etileno coinciden con los síntomas manifestados por daños por frío: abscisión del cáliz, pardeamiento de la pulpa y semillas y aceleración del deterioro. El etileno puede aumentar el deterioro en algunas frutas acelerando su senescencia y ablandamiento, e inhibiendo la formación de compuestos antimicóticos. La incidencia y severidad de los síntomas de deterioro por etileno dependen de su concentración, tiempo de exposición y temperatura. Los efectos por etileno son acumulativos en la vida poscosecha del producto”.

Hay diversos factores que favorecen la producción de etileno, entre ellos las lesiones mecánicas, la descomposición, los daños causados por insectos y algunos tipos de estrés, como las bajas y las altas temperaturas. Después de la conservación en frío, la producción de etileno depende del grado de sensibilidad del fruto a las bajas temperaturas. En cultivares sensibles a las bajas temperaturas como son los frutos inmaduros, la producción de etileno es mayor; mientras que, en los frutos menos sensibles, la producción de etileno es menor (Valenzuela y col., 2017).

2. DAÑOS POR FRÍO (DF)

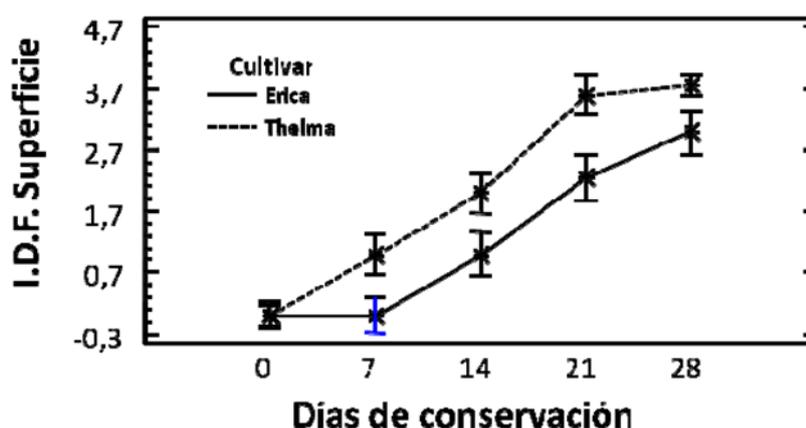
La tecnología más empleada para la conservación de los productos hortofrutícolas son las bajas temperaturas por encima del punto de congelación, debido a que ralentiza el metabolismo celular y los procesos de maduración y senescencia que deterioran la calidad y reducen la vida poscosecha de las frutas y verduras (Saltveit, 2003).

El efecto de las bajas temperaturas es diferente en función de la ruta metabólica, pues podemos diferenciar entre sistemas enzimáticos muy sensibles al frío, que se detiene por completo, y menos sensibles, que no frenan su actividad provocando una acumulación de productos de reacción (productos tóxicos) y una escasez de compuestos que reaccionan (sustrato esencial) que pueden generar un desequilibrio metabólico, causando un funcionamiento anormal de las células y un deterioro a nivel estructural, conocidos como “daños por frío” (DF) o “*chilling injury*” (CI) (Romojaro-Casado, 2016).

Los daños por frío (DF) son un desorden fisiológico originado por la exposición de los productos hortofrutícolas a temperaturas inferiores a un mínimo crítico, pero superiores a su punto de congelación. Los daños por frío están influenciados por un conjunto de factores: 1) Sensibilidad al frío según la especie. Depende de si presentan un origen tropical, subtropical o templado; 2) Sensibilidad según el estado de madurez. Los frutos inmaduros a nivel fisiológico son mucho más sensibles que los frutos maduros (Valenzuela y col., 2017). Ej.: Frutos de ciruela mexicana (*Spondias purpurea* L.) cosechados en estado verde (fisiológicamente inmaduros) conservados a 8 °C mostraron una mayor

sensibilidad al frío que los frutos de ciruela mexicana el estado $\frac{1}{2}$ y $\frac{3}{4}$ amarillo (fisiológicamente más maduros) (Pérez-López y col., 2004); 3) Sensibilidad según la variedad. Ej.: La variedad de berenjena *Erica* es más resistente a los daños por frío que la variedad *Thelma* (Simón-Torres, 2011).

Gráfico 3. Evolución del I.D.F. (índice de los daños por frío) superficie durante la frigoconservación a 8 °C de las variedades de berenjena *Erica* (más resistente) y *Thelma* (más sensible) (Simón-Torres, 2011).



El umbral crítico de temperatura para la inducción de los daños por frío en la mayoría de los cultivos tropicales y subtropicales se encuentra entre 10 y 15 °C, mientras que en los cultivos de origen templado se halla entre 0 y 5 °C, y el límite fisiológico depende de las características del fruto, de la temperatura, del tiempo de exposición y de tratamientos que puedan modificar dicho límite.

Tabla 3. Límites fisiológicos de temperatura para la inducción de los daños por frío.

LÍMITE FISIOLÓGICO	
Frutos zona tropical	12-15 °C
Frutos de zonas templadas	10-12 °C
Frutos de zonas frías	Menos de 5 °C

Es fundamental no romper la cadena de frío durante el transporte y comercialización de los productos hortofrutícolas debido a que los daños por frío suponen un factor crítico, ya que la gravedad del daño puede aumentar al exponer al fruto a temperatura ambiente tras un período de conservación en frío, conllevando una pérdida significativa de agua por parte del producto (Toivonen, 2011). Ej.: Frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus* H.) refrigerados durante 15 días no presentaron daños por frío, pero después de permanecer 7 días a temperatura ambiente (22 ± 4 °C) los frutos previamente almacenados a 2 °C presentaron daños por frío significativamente más severos que los almacenados a 7 ± 4 °C (Quiroz-González y col., 2017). Esto demuestra que los efectos de los daños por frío se agravan una vez se expone el fruto a temperatura ambiente tras un período de frigoconservación, y con la intensidad del tratamiento frigorífico, es decir, a menor temperatura los efectos se incrementan. La severidad y la velocidad del desarrollo de estos síntomas también puede verse afectada en función del tiempo de exposición al daño. Los daños por frío son acumulativos, de hecho, el enfriamiento en el campo cuando la temporada llega a su fin y la temperatura durante la noche se vuelve más fría, puede causar graves problemas reduciendo la calidad y la vida poscosecha de frutas y verduras. Ej.: La sensibilidad a los daños por frío de los tomates, calabazas, pepinos y pimientos cultivados en el otoño,

cuando están expuestos a noches frías, es mayor que para los mismos cultivares cultivados en el verano. En contraste con la acumulación de frío en el campo durante el otoño, las plantas cultivadas en climas frescos y en ambientes ligeramente estresados (estrés hídrico) suelen ser más resistentes al frío que las plantas cultivadas en climas cálidos y bajo condiciones de cultivo más lujosas. Ej.: Tomates cosechados por la mañana, cuando están frescos, son más resistentes al frío que los frutos de la misma planta cosechados por la tarde, cuando están calientes (Saltveit, 2003).

Los cloroplastos son los primeros orgánulos donde se manifiesta los daños por frío, por lo que se llegó a la conclusión de que las lesiones producidas por las bajas temperaturas se ven incrementadas por la irradiación, es decir, proceso por el cual un objeto (producto hortofrutícola) está expuesto a la radiación (luz solar). De hecho, en oscuridad total, el crecimiento bajo condiciones de enfriamiento de *Selaginella spp.* se detuvo, permaneciendo las plantas verdes y, excepto por el agotamiento del almidón, los cloroplastos permanecieron intactos. Por el contrario, durante el enfriamiento a la luz, la clorofila se blanqueó, se acumularon gotitas de lípidos y los tilacoides se degeneraron. Por otra parte, los cloroplastos del parénquima del floema de *Paspalum dilatatum* sufrieron una mayor cantidad de daños que los cloroplastos del mesófilo interior. Esto se atribuye a la diferencia de gradientes de intensidad de luz dentro de la hoja y a la presencia de almidón que fue considerado como un “retardador translocable” de los daños por frío. También se observó que la alta humedad relativa (100%) protege de los daños por frío (protege a los cloroplastos), este efecto protector es potenciado al combinarlo con el tratamiento en oscuridad (Kratsch y Wise, 2000).

2.1 Síntomas

Los daños por frío se caracterizan por un conjunto de disfunciones fisiológicas a nivel macroscópico, celular o microscópico y metabólico que alteran a los productos hortofrutícolas.

Nivel macroscópico

LESIONES SUPERFICIALES O PITTING (PICADO)

Se generan hendiduras que finalmente son invadidas por patógenos oportunistas. Se debe a la pérdida de integridad celular en las membranas y en las paredes celulares generado por un daño oxidativo en el que las especies reactivas de oxígeno (ROS) inducen la rotura de los dobles enlaces de los ácidos grasos de las membranas (Valenzuela y col., 2017).



Figura 2. *Pitting* en berenjena (Cantwell y Suslow, 2005).

MADURACIÓN IRREGULAR

Coloración irregular y cambios composicionales que alteran el sabor y el olor debido a un incremento de la acidez y una pérdida del aroma del fruto. Ej.: Las limas cuando son almacenadas entre 0 °C y la temperatura mínima de seguridad (7-9 °C aproximadamente) experimentan una maduración irregular debido a los daños por frío (Salinas-Andújar y Palao-Porcel, 2002).

PARDEAMIENTO

Pardeamiento de las semillas de la pulpa y de la piel de la fibra vascular causado por la degradación oxidativa de los compuestos fenólicos mediada la enzima polifenol oxidasa (PPO). En presencia de oxígeno, la PPO cataliza la hidroxilación de los monofenoles (ácido clorogénico) en o-difenoles (actividad cresolasa) y la oxidación de estos o-difenoles en o-quinonas (actividad catecolasa). Las o-quinonas son muy inestables y reaccionan rápidamente con los aminoácidos o las proteínas, generando pigmentos marrones por polimerización, estas reacciones son más importantes en frutas con un alto contenido en fenoles como la berenjena. Las bajas temperaturas disminuyen la actividad de esta enzima, pero sigue siendo alta debido a que el frío altera las estructuras de los tejidos, deteriorando los compartimentos que separan a la PPO y a los sustratos, permitiendo su unión y promoviendo la reacción enzimática (Concellón y col., 2004). De hecho, autores como Concellón y col. (2012) demostraron que al principio del período de conservación en frío a 0 °C en berenjenas se produce un incremento de los compuestos antioxidantes en respuesta al estrés, pero una vez se genera el daño estructural, este contenido en compuestos antioxidantes sufre una rápida reducción, se produce el pardeamiento de la pulpa de la berenjena y se desarrollan los daños por frío.

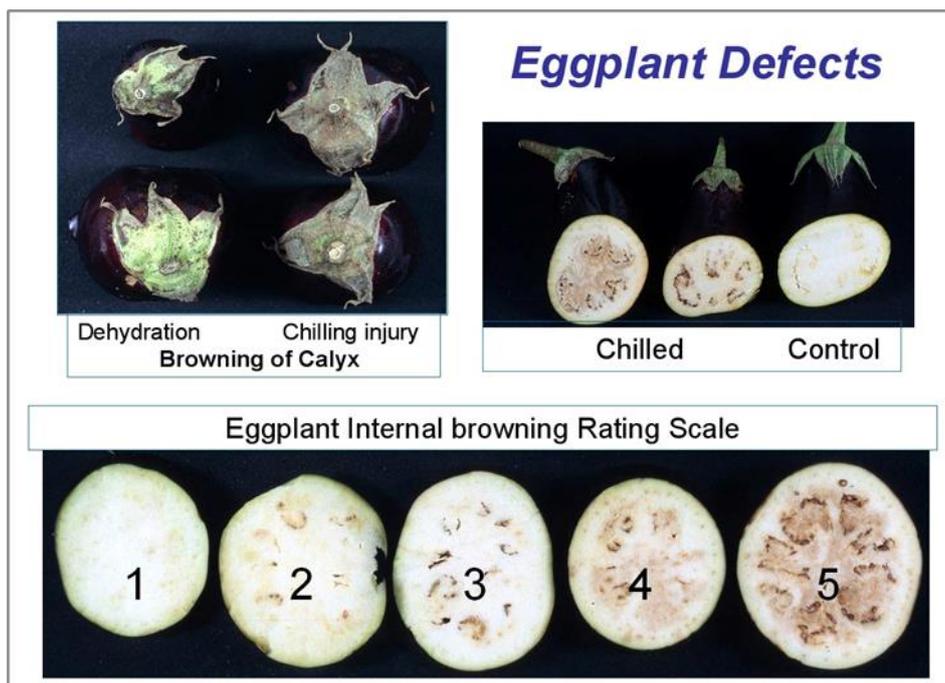
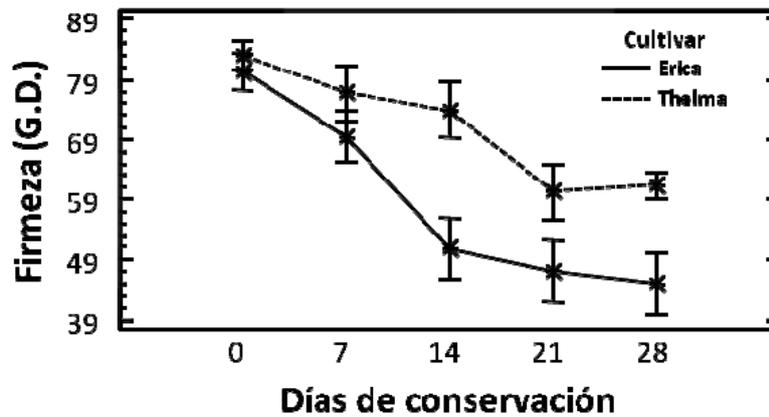


Figura 3. Pardeamiento de la pulpa en berenjena (Cantwell y Suslow, 2005).

ABLANDAMIENTO

Reducción de la firmeza del fruto debido a una mayor actividad de la poligalacturonasa y pectinmetilesterasa inducida por los daños por frío. Ej.: Durante la conservación a 8 °C de las variedades de berenjena *Thelma* y *Erica*, esta última experimenta una menor pérdida de firmeza o ablandamiento del fruto. (Simón-Torres, 2011).

Gráfico 4. Evolución de la firmeza (expresada en grados *Durofel*) durante la frigoconservación a 8 °C de las variedades de berenjena *Erica* (mayor pérdida de firmeza) y *Thelma* (menor pérdida de firmeza) (Simón-Torres, 2011).



INFECCIONES FÚNGICAS

Invasión por patógenos oportunistas de carácter secundario (Valenzuela y col., 2017). Ej.: Infección por *Botrytis* en berenjena.



Figura 4. *Pitting* e infección por *Botrytis* (cáliz) en berenjena debido a *chilling injury* (Cantwell y Suslow, 2005).

Nivel metabólico

MAYOR PRODUCCIÓN DE ETILENO

Los daños por frío generan una mayor producción de etileno. Ej.: Frutos control de berenjena cv. *Thelma* conservados a 20 °C presentaron una muy baja producción de etileno que fue suavemente incrementándose a medida que transcurría el tiempo de conservación, mientras que frutos de berenjena cv. *Thelma* conservados a bajas temperaturas, que después fueron aclimatados durante 6 horas a temperatura ambiente, muestran un pico en la producción de etileno notorio (Carrera y col., 2016).

Los efectos del frío sobre la síntesis de etileno pueden observarse tras haber expuesto al fruto a temperatura ambiente. Se ha demostrado que se produce una reducción de la actividad ACC oxidasa sin ser limitante sobre la producción de etileno y que hay un aumento de transcritos ACC sintetasa debido a que se ve inhibida por la cicloheximida (inhibidor de la traducción), pero no se ve afectada

por la α -amanitina (inhibidor de la transcripción), por consiguiente, durante el reacondicionamiento del fruto se producen grandes cantidades de proteína ACC sintetasa que generan una mayor producción de etileno (Romojaro-Casado, 2016).

MAYOR ESTRÉS OXIDATIVO

Las bajas temperaturas incrementan los niveles de ROS o de especies reactivas de oxígeno que son radicales libres como el anión superóxido (O_2^-) y el radical hidroxilo (OH^\cdot), así como moléculas no radicales como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el singlete de oxígeno (1O_2), el radical perhidroxilo (HO_2^\cdot) y el radical peroxilo (ROO^\cdot), que se acumulan en las células e inducen una situación de estrés. Cuando los niveles de estas especies reactivas exceden los mecanismos de defensa celular, provocan fallos en la homeostasis celular y generan elevados niveles de malondialdehído (MDA), que es un indicador del daño en la membrana celular. Ej.: El contenido de MDA de los frutos de calabacín (*Cucurbita pepo* L.) de la variedad *Sinatra* (variedad sensible a los daños por frío) conservados a 4 °C durante 0, 7 y 14 días se incrementa en una mayor proporción que el contenido de MDA de los frutos de calabacín de la variedad *Natura* (variedad resistente a los daños por frío) (García-Galiano, 2014). Esta situación puede llegar a ser tóxica y perjudicial, por lo que la célula se protege promoviendo la actividad de enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), la guayacol peroxidasa (G-POD), la ascorbato peroxidasa (APX), la glutatión reductasa (GR), la monodehidroascorbato reductasa (MDHAR), dehidroascorbato reductasa (DHAR) y la glutatión reductasa (GPX), y potentes antioxidantes no enzimáticos como ascorbato (AsA), el glutatión (GSH), los carotenoides, los tocoferoles y los fenoles (Manar y col., 2013).

Nivel celular o microscópico

CLOROPLASTOS

Los cloroplastos son los orgánulos más afectados y el primer sitio visible de lesión por frío ultraestructural en las células vegetales, motivo por el cual se justifica que los frutos inmaduros y las partes verdes de los frutos son más sensibles a los daños por frío que los frutos maduros (Heyes, 2018). Las primeras manifestaciones del enfriamiento son el hinchazón del cloroplastos debido al aumento de los osmolitos estomales, la distorsión e hinchazón de los tilacoides debido a la foto-oxidación inducida por el enfriamiento, la reducción del tamaño y el número de gránulos de almidón (con el tiempo desaparecen por completo) y formación de pequeñas vesículas en la envoltura del cloroplasto conocidas como “retículo periférico” que se desarrolla para aumentar la superficie de la membrana interna del cloroplasto durante una disminución de la capacidad de transporte inducida por el enfriamiento. Con un enfriamiento prolongado se produce la acumulación de gotitas de lípidos, el oscurecimiento del estroma, el desapilamiento de los grana y la desintegración de la envoltura del cloroplasto, mezclándose el contenido del estroma con el del citoplasma celular. También se puede producir la desorientación de los grana, deformación de las pilas de grana y perturbación seguida de una posterior desaparición de las láminas del estroma de los cloroplastos (Kratsch y Wise, 2000).

MITOCONDRIAS

Las mitocondrias son más resistentes a las bajas temperaturas que los cloroplastos, aunque las mitocondrias de plantas hipersensibles al frío son notablemente afectadas por el enfriamiento y reportan hinchazón, desorganización, dilatación, vacuolización y el aumento de las crestas mitocondriales (Kratsch y Wise, 2000).

NÚCLEO Y OTRAS ESTRUCTURAS CELULARES

Se puede observar una condensación de la cromatina, modificaciones en la apariencia del nucleolo, núcleos hinchados con la cromatina y los nucleolos fragmentados, los haces de microfilamentos, otras estructuras del núcleo y del citoplasma se vuelven densos, agrandamiento de las vesículas de Golgi y dilatación del retículo endoplasmático seguido de un hinchazón de las membranas (Kratsch y Wise, 2000).

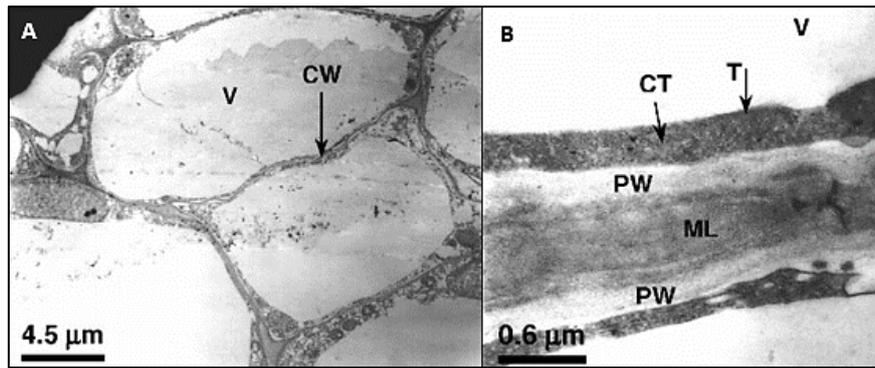


Figura 5. Daño ultraestructural en tejido de berenjena analizado por TME o microscopía electrónica de transmisión tras la cosecha. CT = citoplasma; CW = pared celular; ML = lámina media; PW = pared celular primaria; T = tonoplasto; V = vacuola. A) Células turgentes, muy apretadas entre sí, con paredes celulares muy delgadas, con grandes vacuolas, tonoplastos intactos y citoplasmas periféricos confinados en una capa estrecha adyacente a la pared celular; B) Lámina media muy visible (región densa en electrones) (Concellón y col., 2007).

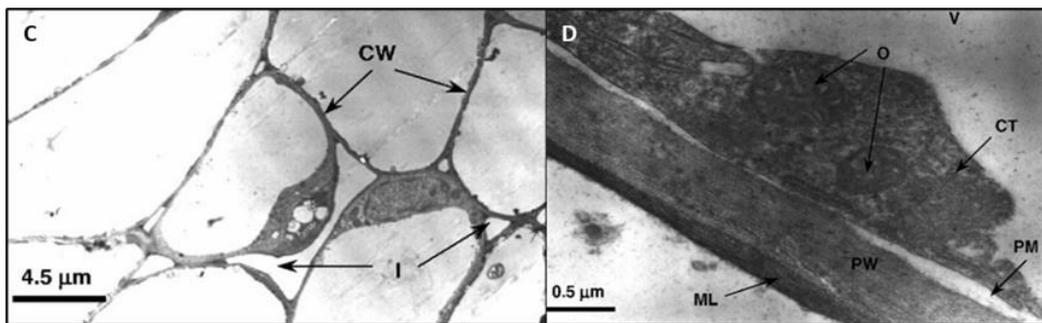


Figura 6. Daño ultraestructural en tejido de berenjena analizado por TME o microscopía electrónica de transmisión tras 6 días a 0 °C. CT = citoplasma; CW = pared celular; I = espacios intercelulares; ML = lámina media; PM = membrana plasmática; PW = pared celular primaria; V = vacuola. C) Grandes espacios intercelulares; D) La membrana plasmática y el citoplasma se encuentran separados de la pared celular (Concellón y col., 2007).

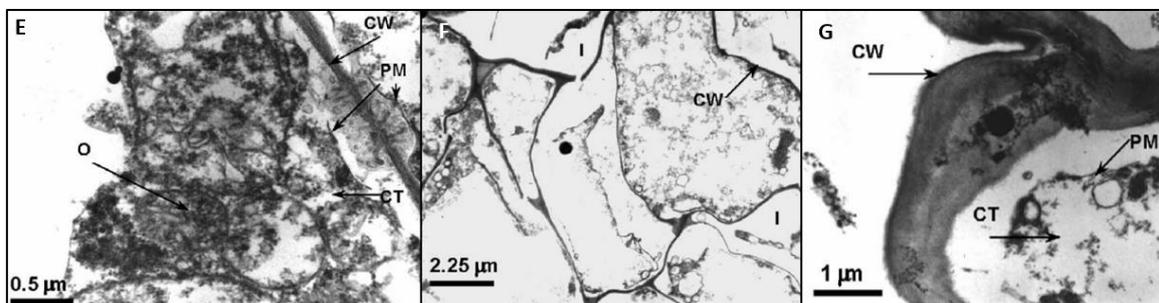


Figura 7. Daño ultraestructural en tejido de berenjena analizado por TME o microscopía electrónica de transmisión tras 15 días a 0 °C. CT = citoplasma; CW = pared celular; I = espacios intercelulares; PM = membrana plasmática; O = orgánulos. E); Alteración celular; F) Contracción del citoplasma y la membrana plasmática, y dispersión del material celular; G). Contorno y grosor celular irregular, y dispersión del material celular (Concellón y col., 2007).

2.2 Causas fisiológicas

Las posibles causas fisiológicas de la lesión por frío son muchas debido a que hay una gran cantidad de síntomas en diferentes especies y tejidos que se producen después de períodos variables de exposición a diferentes temperaturas de enfriamiento.

La teoría membranaria

El principal efecto generado por los daños por frío que desencadena el conjunto de disfunciones fisiológicas y síntomas a nivel macroscópico, microscópico o celular y metabólico, es el cambio de fase de los lípidos de la membrana y la modificación de la permeabilidad de esta, perturbaciones explicadas en la “teoría membranaria” de Lyons (1973). Las bajas temperaturas por debajo de la temperatura crítica denominada “temperatura de transición”, induce la organización de los lípidos de la membrana en una estructura rígida llamada “sólido-gel”, es decir, cambia la composición de los lípidos debido a un aumento de la microviscosidad de la matriz (peroxidación de lípidos, aumento del índice de saturación de los ácidos grasos, degradación de los fosfolípidos y galactolípidos y aumento de la relación esteroides/fosfolípidos), provocando el cese de la actividad protoplasmática, el aumento de la energía de activación de enzimas membranas y el aumento de la permeabilidad de las membranas (disminución de la función de la membrana y de las proteínas asociadas a ellas). Seguidamente, se produce una disminución del abastecimiento de ATP (el cese de los movimientos de ciclosis), desórdenes metabólicos, salida de solutos o electrolitos, perturbación del equilibrio iónico y acumulación de metabolitos tóxicos (etanol, acetaldehído...), que con una exposición prolongada conlleva la muerte celular (aumento y la degeneración de las mitocondrias y de los plastos, vacuolización y dilatación del retículo endoplasmático, pérdida de ribosomas, ruptura de los tonoplastos, aglutinación de la cromatina y depósito de materiales nuevos en la pared celular) (Romojaro-Casado, 2016).

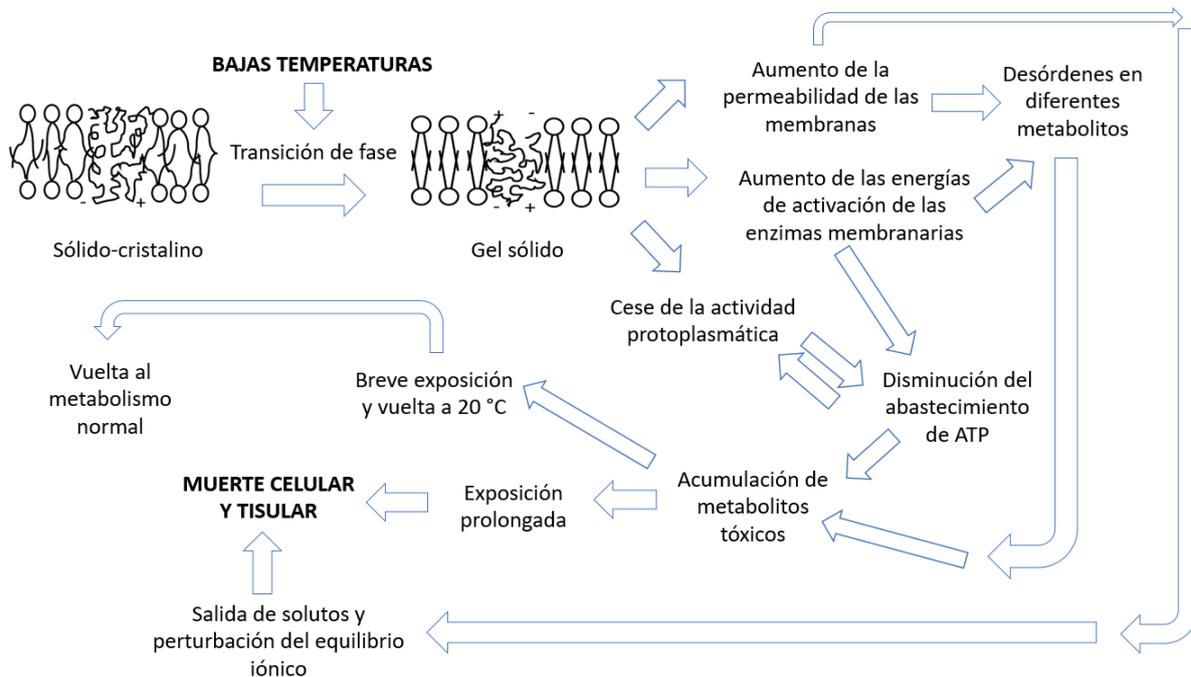


Figura 8. Esquema de los eventos que desencadenan los daños por frío o *chilling injury* en los productos hortofrutícolas (Lyons, 1973 en Saltveit, 2003).

Aumento o reducción de la actividad enzimática

La fosfofructoquinasa (PFK) es una enzima esencial en la glicólisis que cuando está activa forma un tetrámero y cuando se inactiva debido a las bajas temperaturas se disocia en dímeros endulzando a las patatas almacenadas en frío. Disminución de la actividad de la enzima que cataliza la formación del ácido clorogénico, *caffeoyl-CoA: quinic acid o-caffeoyltransferase*, debido a que es inhibida por la cicloheximida a bajas temperaturas. Las bajas temperaturas no sólo inducen la actividad de determinadas enzimas, también son conocidas por frenar su decaimiento (Saltveit, 2003).

Alteración del metabolismo

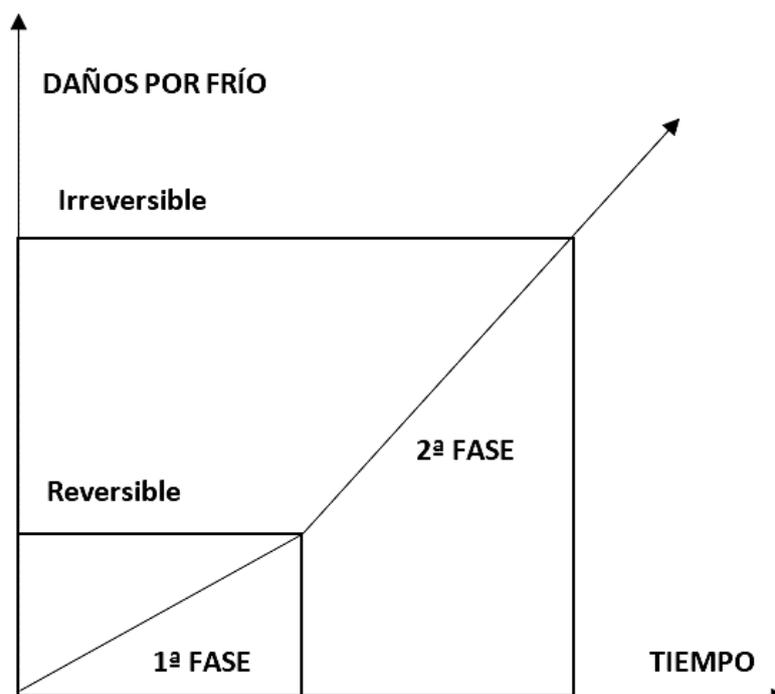
En los sistemas biológicos puede haber una serie de reacciones enzimáticas que compiten por el mismo sustrato y que presentan diferentes energías de activación o Q_{10} (coeficiente de temperatura que mide el aumento de la velocidad de una reacción química como consecuencia del incremento de 10°C), por lo que un cambio en la temperatura puede modificar la proporción de sustrato que se transforma en un determinado producto, dejar a la célula desprovista de un determinado compuesto, generar niveles tóxicos de otros compuestos y alterar el metabolismo celular (Saltveit, 2003).

2.3 Fases

Los daños por frío tienen lugar en dos fases sucesivas:

- **Fase de latencia o umbral de inducción.**: Etapa reversible de duración variable, según el fruto y la temperatura, en la que no se manifiestan los síntomas. En esta primera etapa se producen cambios físicos en los lípidos de la membrana (Romojaro-Casado, 2016).
- **Fase asintomática.**: Etapa irreversible en la que aparece la sintomatología y la temperatura ambiente contribuye a acelerar su desarrollo. En esta segunda etapa se produce una alteración en el transporte de iones a través de las membranas, modificación de los procesos metabólicos e interrupción de las corrientes citoplasmáticas. Finalmente, se produce la destrucción de las membranas y se hacen visibles los síntomas de los daños por frío (Romojaro-Casado, 2016).

Gráfico 5. Fases de los daños por frío (Romojaro-Casado, 2016).



2.4 Aclimatación o endurecimiento

La aclimatación o endurecimiento son los cambios que se producen en una planta en respuesta a las bajas temperaturas que le confieren una posterior tolerancia al frío. La capacidad de las plantas de sufrir dichos cambios es lo que explica las grandes diferencias existentes entre especies y variedades susceptibles y resistentes al frío. El mecanismo de endurecimiento implica la formación de un conjunto paracrystalino de proteínas en las membranas de los tilacoides, la disminución de la concentración y homogeneización o aumento del tamaño de las partículas en la cara interna de las membranas fracturadas de los tilacoides. Todo ello, debido a la alteración de la región hidrofóbica, al aumento de la insaturación lipídica de las membranas, a la pérdida de la naturaleza bimodal en la distribución del tamaño de las partículas y a la formación de células mesófilas univacuoladas y multivacuoladas (las células mesófilas de las plantas no aclimatadas son todas univacuoladas). Asimismo, esto también es consecuencia del aumento de la cantidad de pilas de grana pequeñas, del aumento del contenido en clorofila, β -caroteno y xantofilas (manteniendo el tamaño de la unidad fotosintética), de la duplicación del contenido de fosfolípidos y del aumento de los esteroides libres debido a la proliferación del retículo endoplasmático liso vesiculado y de la membrana tonoplástica. De esto surge la hipótesis de que la tolerancia al frío se incrementa debido al aumento de sustrato disponible y a la ampliación de la membrana plasmática y del tonoplasto que permiten que la planta pueda adaptarse a la reducción de superficie debido a la deshidratación durante la frigoconservación. Finalmente, también se reportaron invaginaciones del retículo endoplasmático fragmentado de la membrana plasmática (Kratsch y Wise, 2000).

2.5 ¿Induce la muerte celular programada (PCD)?

La muerte celular programada o apoptosis (PCD en sus siglas inglesas, *Programmed Cellular Death*) es la muerte de la célula a partir de una secuencia de sucesos moleculares programados genéticamente en los que la célula es destruida por sí misma y engullida por otras células (macrófagos) para ser eliminada sin dejar rastro, es decir, mueren limpiamente sin generar una respuesta inflamatoria. Este fenómeno en células animales genera el encogimiento y condensación de las células, se colapsa el citoesqueleto, la envoltura nuclear se desmonta, la cromatina nuclear se condensa y se rompe, y aparecen bultos y alteraciones en la superficie de la célula que atraen a los macrófagos. Para ello, requieren de la participación de las vías de transducción de señales dependiente de Ca^{2+} , producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la activación de una cascada de proteasas intracelulares específicas, las caspasas. Aunque no está del todo bien caracterizado y determinado, hay una fuerte evidencia de que el proceso de apoptosis también se realiza en células vegetales bajo estrés causado por bajas temperaturas o *chilling*. Estas evidencias son respaldadas por la similitud entre las lesiones provocadas por *chilling injury* y las que se producen durante la muerte celular programada: desintegración de los cloroplastos, vesiculación de las membranas celulares, vacuolización y encogimiento del citoplasma, y condensación y fragmentación del ADN nuclear. Además, la respuesta fisiológica de las células vegetales expuestas a temperaturas bajas también se asemeja a la que se observa en la supuesta muerte celular programada (Kratsch y Wise, 2000).

A continuación, la pregunta que nos cuestionamos es la siguiente: ¿qué ocurre a nivel molecular y celular? La generación de ROS en el cloroplasto, inducida por condiciones que dan lugar a la respuesta retardada de las plantas al enfriamiento, desencadena un aumento y un influxo de los iones libres de Ca^{2+} , indicador clave de la muerte celular programada, desde las reservas intracelulares y posiblemente desde las reservas extracelulares también, generando cambios en las concentraciones de calcio en el citoplasma y en los diferentes orgánulos. Los cationes de Ca^{2+} se unen a las proteínas dependientes de calcio que interactúan con las estructuras celulares y el citoesqueleto, desencadenan una serie de procesos y provoca la fosforilación de proteínas que estimulan una cascada de enzimas proteolíticas (caspasas) que dividen selectivamente las proteínas celulares clave y regulan el proceso. El Ca^{2+} también actúa como segundo mensajero en un proceso de transducción de señales y regula la expresión de genes que codifican para proteínas que inducen dicha respuesta. Posteriormente, se

produce la fragmentación de las moléculas de ADN mediada por endonucleasas dependientes de Ca^{2+} para un empaquetamiento más eficiente. Los iones libres de Ca^{2+} afectan a la permeabilidad de la membrana y, por lo tanto, al transporte de los metabolitos dentro y fuera del cloroplasto por medio de la pared celular (Kratsch y Wise, 2000).

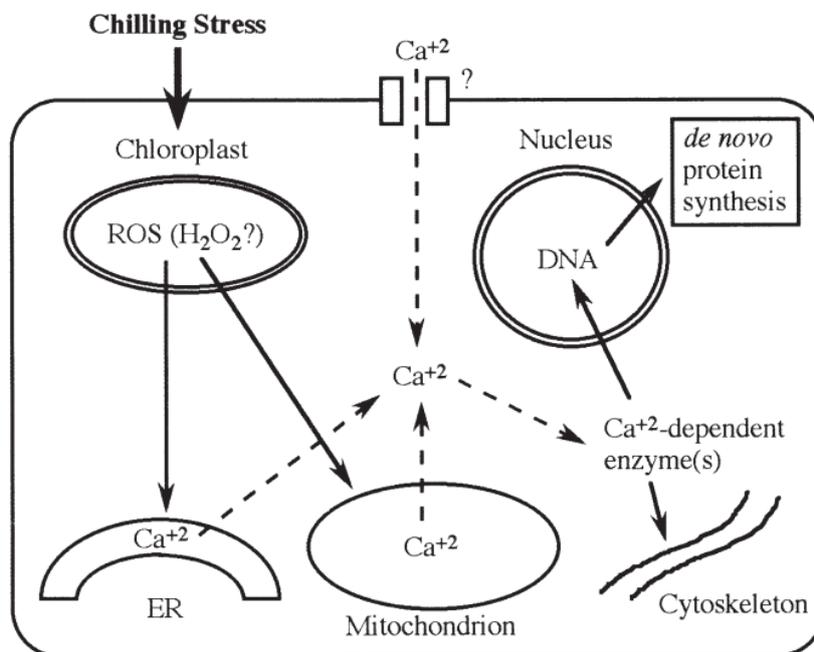


Figura 9. Pasos iniciales propuestos para el mecanismo de PCD o muerte celular programada en *chilling injury* (Kratsch y Wise, 2000).

2.6 Tratamientos

Puesto que una mala manipulación del producto durante la poscosecha puede acarrear pérdidas cuantitativas y cualitativas, se han desarrollado diferentes tecnologías precosecha y poscosecha para evitar o retrasar el desarrollo de lesiones debido a las bajas temperaturas, mantener la calidad y prolongar la vida poscosecha de los productos hortofrutícolas (García-Galiano, 2014). Dentro de estas tecnologías precosecha y poscosecha podemos diferenciar entre tratamientos químicos y físicos. La ventaja que presentan los tratamientos físicos frente a los químicos es la mayor aceptación de éstos por parte del consumidor (Carvajal-Moreno, 2014), ya que los tratamientos químicos se basan en el empleo de hormonas, inhibidores de hormonas o metabolitos implicados en la respuesta al estrés debido a que el estrés oxidativo y los síntomas de los daños por frío son controlados por reguladores del crecimiento y metabolitos que inducen mecanismos de transducción de señales (Valenzuela y col., 2017).

Tratamientos precosecha

TRATAMIENTOS FÍSICOS

Altas temperaturas

El tratamiento precosecha o el cultivo de los productos hortofrutícolas durante el día a temperaturas elevadas aumenta la tolerancia al enfriamiento durante su poscosecha. Las altas temperaturas reducen las lesiones por frío, la fuga de electrolitos, la maduración y la pérdida de peso o deshidratación, prolonga la vida de almacenamiento y aumenta la actividad de las enzimas y los compuestos antioxidantes (Kang y col., 2002). Ferguson y col. (1999) demostraron en frutos de

manzana y de aguacate que las altas temperaturas también inducen la expresión de los genes de las proteínas de choque térmico o chaperonas. Ej.: Frutos de aguacates expuestos a la luz directa del sol presentaron un menor número de lesiones por frío, un retraso en el proceso de maduración, una reducción de flujo de electrolitos y un aumento en la expresión del ARN mensajero de las chaperonas (Woolf y col., 1999).

TRATAMIENTOS QUÍMICOS

Ácido salicílico (SA) y ácido jasmónico o algunos derivados

El ácido salicílico reduce las lesiones por frío debido a que disminuye la pudrición de los frutos, el contenido en MDA y la fuga de electrolitos. Además, mantiene la firmeza, el contenido en sólidos solubles, la acidez valorable, los azúcares individuales, los ácidos orgánicos, el color y el contenido de clorofila más altos, y aumenta el contenido en compuestos antioxidantes como los fenoles y los flavonoides (Supapvanich y col., 2015; Ahmad y col., 2013). Ej.: En albahaca de limón rociada con SA 24 horas antes de la cosecha, se observó cómo el tratamiento con SA alivió los síntomas ocasionados por los daños por frío, redujo el contenido en MDA y el flujo de electrolitos, el verdor se mantuvo más alto y se incrementó el contenido en compuestos antioxidantes (Supapvanich y col., 2015).

El ácido jasmónico y su derivado volátil el metil-jasmonato (MeJA) aumenta la tolerancia a los daños por frío debido a que promueve la síntesis de compuestos y enzimas antioxidantes, retrasa el proceso de maduración y disminuye la tasa de respiración, la producción de etileno y el ablandamiento del fruto (Zapata y col., 2014). Martínez-Esplá y col. (2014) observaron como el tratamiento con MeJA durante la cosecha reducía la pérdida de peso, de tamaño y de tonalidad de los frutos, y aumentaba la acidez total, el contenido en fenoles y la actividad antioxidante. Ej.: El tratamiento previo a la cosecha de frutos de limón con MeJA aumentó el contenido en fenoles y la actividad de enzimas antioxidantes como la catalasa, la peroxidasa y la ascorbato peroxidasa (Serna-Escolano y col., 2019). Ej.: En árboles de granada rociados con MeJA 15 días antes de la cosecha y almacenados a 4 °C durante 80 días, se observó un menor índice de daños por frío gracias a la reducción de la fuga de electrolitos y al aumento de la actividad de enzimas antioxidantes y del contenido en antocianinas, fenoles y flavonoides (Koushesh-Saba y Zarei, 2019).

Giberelinas

Las giberelinas prolongan la calidad de los productos hortofrutícolas y reducen la lesión por frío durante el almacenamiento, ya que mantienen la firmeza y el contenido de vitamina C del fruto, disminuyen la pérdida de peso, el aumento de los sólidos solubles y el flujo de electrolitos e incrementan la actividad antioxidante y el contenido en MDA, fenoles, clorofila y calcio (Bagnazari y col., 2018). Ej.: El tratamiento con giberelinas del fruto del caqui "*Rojo Brillante*" retrasó la pérdida de firmeza durante 10 días más en comparación con los frutos control o no tratados, y prolongó el período de conservación (Besada y col., 2008).

Otros tratamientos

Tratamientos con disoluciones de calcio en forma de nitratos, cloruros y sulfatos prolongan la calidad de los productos hortofrutícolas con una mayor eficacia que las giberelinas (Bagnazari y col., 2018). Ej.: El tratamiento precosecha con calcio de mandarinas "*Fortune*" que posteriormente fueron almacenadas a 5 °C durante 2 meses, redujo la gravedad de las lesiones por frío (D'Aquino y col., 2005). De la misma forma que se obtuvieron resultados alentadores, hubo otros que lo fueron menos. Ej.: El tratamiento precosecha con CaCl₂ del cactus pera retrasó el desarrollo del color de la corteza y aumentó la resistencia de la fruta a la descomposición, pero promovió la susceptibilidad a las lesiones por frío (Schirra y col., 1999).

También se ha demostrado que son útiles los tratamientos con glicina-betaína (Rodríguez-Zapata y col., 2015), aminoetoxi-vinil-glicina (AVG) (McGlasson y col., 2005), nitroprusiato de sodio (Koushesh-Saba y Moradi, 2017) y tiabendazol (Schirra y col., 2002).

Tratamientos poscosecha

TRATAMIENTOS FÍSICOS

Atmósferas controladas y modificadas

El envasado en atmósfera modificada (EAM o MAP en sus siglas inglesas, *Modified Atmosphere*) implica la eliminación del aire interior del envase y la sustitución por una gas o una mezcla de gases formados por CO₂, O₂, etileno y vapor de agua con el objetivo de disminuir el grado de respiración, la producción de etileno y el crecimiento microbiano, retrasar el deterioro enzimático, la maduración y la senescencia, alargar la vida útil del producto y contribuir al mantenimiento de la atmósfera que rodea al producto hortofrutícola con un alto valor de humedad relativa, evitando así la excesiva pérdida de agua (Kader, 1989; García-Galiano, 2014).

Las atmósferas modificadas (AM) y las atmósferas controladas (AC) están basadas en el mismo principio, ya que ambas se fundamentan en quitar o añadir gases a la atmósfera que rodea al producto hortofrutícola con el fin de obtener una atmósfera de composición distinta a la del aire. Generalmente, la modificación consiste en reducir el contenido de O₂ y el aumento de la concentración CO₂. La única diferencia entre las AC y las AM es en el grado de control, siendo las AC más exacta (Carvajal-Moreno, 2014). Ej.: En calabacín y el melón conservado a 10 °C bajo AM con niveles de CO₂ próximos al 10%, se inhibieron los efectos nocivos del etileno, se mejoró la firmeza, el color, el aroma y el sabor, se mantuvo la calidad de los frutos y se prolongó vida poscosecha de ambos productos hortofrutícolas (Artés y Artés-Hernández, 2003). Ej.: El pepino almacenado bajo CA con bajas concentraciones de O₂, redujo la pérdida de peso, los cambios en el color de la piel, la fuga de electrolitos y la acumulación de MDA (Fahmy y Nakano, 2014).

Retractilado o plastificado

La técnica del plastificado o retractilado es un tipo de atmósfera modificada que presenta efectos positivos en el mantenimiento de la calidad y el aumento de la vida útil de los productos hortofrutícolas (Valenzuela y col., 2017). Este tratamiento consiste en envolver el fruto de forma individual en un film de plástico de polietileno termorretráctil que se sella herméticamente mediante la aplicación de calor y que mantiene fresco al producto (García-Galiano, 2014). Las principales ventajas de la envoltura retráctil individual incluyen la reducción de los daños por frío, de la deshidratación, de la deformación y de la descomposición de los frutos, que evitan la infección (Valenzuela y col., 2017). Ej.: En frutos de pepino plastificados, almacenados a 12±1 °C y 90-95% de humedad relativa y trasladados a temperatura ambiente durante 5 días, se observó que la pérdida de peso fue mínima en comparación con el pepino no retractilado. También se detectó que la pérdida de firmeza del pepino retractilado tras 12 días de frigoconservación a 12±1 °C y 90-95% de humedad relativa, y la pérdida de calidad sensorial y color tras 15 días de almacenamiento fueron mínimas (Dhall y col, 2012). Ej.: Calabacines retractilados, almacenados a 4 °C durante 0, 7 y 14 días, y reacondicionados a 20 °C durante 6 días, experimentaron una disminución del deterioro poscosecha debido a la reducción de la pérdida de peso y de firmeza, las picaduras, la tasa respiratoria, el nivel de metabolitos que participan en el estrés oxidativo como el peróxido de hidrógeno y el malonildialdehído (MDA), y la producción de etileno, así como la expresión de los genes de biosíntesis del etileno, pero no de los genes implicados en la percepción y sensibilidad al etileno (Megías y col., 2015).

Tratamiento previo o durante la frigoconservación con CO₂ o O₂

Aplicación durante el tratamiento frigorífico o de forma previa de altas concentraciones de CO₂ (choques) o bajas concentraciones de O₂ (hipoxia severa). Ej.: Niveles de O₂ del orden del 1% limitan de forma significativa la tasa respiratoria y la biosíntesis de etileno debido a que el O₂ es necesario para la conversión de ACC a etileno gracias a la acción de la ACC oxidasa, en el suministro del ATP para la

activación de la metionina y en la unión del etileno con su receptor (Romero-Casado, 2016). En el tratamiento de altos niveles de CO₂ se debe tener cuidado con la inducción de procesos fermentativos anaeróbicos que producen compuestos (acetaldehído y etanol) que enrarecen el aroma del fruto (García-Galiano, 2014). Ej.: Se ha descrito un aumento de la tolerancia al frío mediante aplicación de CO₂ previa al almacenaje en frutos de calabacín, ya que afecta al contenido en poliaminas (Carvajal-Moreno, 2014).

Tratamientos con radiación ultravioleta de onda corta (UV-C)

En la aplicación de radiación ultravioleta de onda corta (UV-C) consiste en aplicar a los productos hortofrutícolas longitudes de onda entre 283 y 200 nm durante un período de tiempo determinado para el control de la podredumbre y otras alteraciones acontecidas durante la poscosecha. Se trata de un tratamiento muy fitotóxico, por lo que es necesario optimizar la dosis y las condiciones de irradiación. Ej.: La irradiación de pimientos rojos conservados durante 15 y 20 días a 0 °C más 4 días a 20 °C, tuvo un efecto positivo sobre el control de los daños por frío, ya que se detectó una menor salida de electrolitos, tasa respiratoria y contenido en fenoles (Romero-Casado, 2016).

Recubrimientos comestibles y aceites esenciales

Los recubrimientos comestibles están basados en el empleo de lípidos, proteínas y polisacáridos como la cera carnauba, la zeína (proteína presente en el maíz), la aloe vera o el alginato (carbohidrato del componente de la pared celular de las algas pardas). También se usan tratamientos con aceites esenciales obtenidos de plantas como *Syzygium spp* (clavo), *Thymus spp* (tomillo), *Mentha spp* (menta) y *Origanum* (orégano), de los que obtenemos los siguientes compuestos químicos: eugenol (clavo), timol (tomillo), mentol (menta) y carvacrol (orégano) (Valverde y col, 2005; Valero y col., 2006; Serrano y col. 2008). Estos recubrimientos comestibles preservan la calidad de los productos hortofrutícolas reduciendo la pérdida de agua y los daños por frío. Cada vez se emplean más debido a su carácter no tóxico y biodegradable (Valenzuela y col., 2017). Ej.: El objetivo de los tratamientos céreos es devolver al fruto la capa de ceras naturales perdidas durante el proceso de lavado-cepillado, para reducir las pérdidas de peso y de agua del fruto, mejorar la calidad de la apariencia y resaltar su brillo natural (Artés, 2003).

Tratamientos térmicos

Se observó que los daños por frío son menores y que hay un desarrollo de la resistencia a la aparición de dichos daños, si el período de tiempo que están los frutos a bajas temperaturas se interrumpe, se reduce o se suprime y el fruto continúa su proceso de maduración con normalidad (Couey, 1982). Los tratamientos con altas temperaturas controlan las enfermedades poscosechas, como el ataque por insectos y la infección por patógenos fúngicos, mejoran la respuesta de los productos hortofrutícolas a las bajas temperaturas y mantienen su calidad (Carvajal-Moreno, 2014). Por ello se han desarrollado tecnologías de pretratamiento con altas temperaturas, que consiste en sumergir los frutos en agua caliente (HWD) o en duchas calientes y cepillado (HWRB), ambos seguidos de un tratamiento con vapor de agua y aire caliente (Romero-Casado, 2016). Se propuso que la eficacia de dichos tratamientos se debía a la inducción de la síntesis de “proteínas de choque térmico”, chaperonas (*Heat Shock Protein*, HSP) o “proteínas de estrés”. Los agentes estresantes pueden inducir la síntesis de estas proteínas y aumentar el índice de saturación de los lípidos de membrana. Como consecuencia, se produce un cambio en la composición de los lípidos debido a las altas temperaturas que conlleva una mayor fluidez de la membrana, una menor pérdida de electrolitos y una mayor adaptación a las bajas temperaturas; aumento de los niveles de poliaminas y el incremento de la actividad antioxidante (Romero-Casado, 2016; Valenzuela y col., 2017; García-Galiano, 2014). Durante el estrés se induce la desnaturalización y disfunción de muchas proteínas, por lo que las HSPs ayudan a dichas proteínas a mantener un adecuado plegamiento y su conformación estructural y funcional (Vinocur y col., 2005; Sánchez-Bel y col., 2012). Ej.: En frutos de ciruela, chirimoya, plátano, pomelo, tomate y uva, se ha asociado una mayor cantidad de chaperonas con el aumento de la tolerancia al frío gracias al empleo de tratamientos térmicos (Carvajal-Moreno, 2014).

También, se encuentran los tratamientos intermitentes (IW) que consisten en someter a los frutos a subidas de temperatura durante la fase reversible de los daños por frío de su almacenamiento en frío (Artés, 1995). El calentamiento intermitente es considerado el tratamiento más eficaz para minimizar los daños por frío en los órganos vegetales debido a su capacidad de restaurar las membranas celulares, eliminar los metabolitos tóxicos acumulados en las células y los tejidos a bajas temperaturas, y favorecer la síntesis de metabolitos indispensables para la célula (Marcellin, 1992; Artés, 2003).

Además, se ha probado que el tratamiento o el acondicionamiento previo a la conservación en frío con un choque térmico a alta temperatura, previene del desarrollo de los daños por frío gracias a la acumulación de chaperonas o proteínas de choque térmico (Wang, 2013). Ej.: El acondicionamiento de frutos de tomates verdes inmaduros a 36-40 °C durante 3 días previene de la aparición de los daños por frío durante su almacenamiento a 2 °C (Lurie y Klein, 1991).

Asimismo, se ha demostrado la eficacia de tratamientos con bajas temperaturas de forma previa a la frigoconservación, que consisten en un choque térmico a baja temperatura durante un período de tiempo corto. Permite la reducción de la tasa metabólica, el atraso del proceso de maduración, el cambio de la composición de las membranas y activación de los mecanismos antioxidantes (Carvajal-Moreno, 2014).

Por último, el preacondicionamiento o el tratamiento de especies sensibles al frío con temperaturas moderadas induce el proceso de aclimatación, explicado en el apartado 2.4 de esta misma revisión bibliográfica. Este proceso protege y estabiliza las membranas celulares, aumenta los mecanismos antioxidantes e incrementa la concentración de compuestos con función protectora como los azúcares, poliaminas y prolina (Mahajan y Tuteja, 2005). Estos tratamientos son capaces de reducir la peroxidación de lípidos, disminuir la fuga de iones, mermar el contenido de H₂O₂ e inducir la actividad de enzimas antioxidantes como la peroxidasa, la ascorbato peroxidasa (APX), la catalasa (CAT), la superóxido dismutasa y la glutatión reductasa (García-Galiano, 2014; Valenzuela y col., 2017). Se conocen dos tipos de preacondicionamiento a bajas temperaturas: 1) Acondicionamiento a bajas temperaturas (*Low Temperature Conditioning* o en sus siglas en inglés LTC). El acondicionamiento a temperaturas ligeramente superiores al rango de enfriamiento crítico aumenta la tolerancia del producto al frío durante el subsiguiente período de enfriamiento a baja temperatura y retrasa el desarrollo de los DF (Wang, 2013). Ej.: En el acondicionamiento de kiwis se observó un aumento de la actividad de enzimas antioxidantes que disminuyen los efectos de ROS y de los daños por frío (Yang y col., 2013). Ej.: En el preacondicionamiento de frutos de calabacín a temperaturas de 15 °C durante dos días antes de su frigoconservación a 4 °C, se observó una reducción de los daños por frío al prevenir el deterioro de la membrana celular y mejorar su actividad antioxidante (Carvajal y col., 2015; Wang y col., 1994); 2) Enfriamiento por pasos (*Stepwise Cooling*). La reducción gradual de la temperatura o el enfriamiento por etapas podría tener los mismos beneficios o incluso más que la temperatura única de acondicionamiento (LTC) (Wang, 2013). Ej.: Frutos de berenjena expuestos a 15 °C durante 1 o 2 días seguido de 1 día a 10 °C presentan menos *pitting* después del almacenamiento a 6.5 °C durante 7 días que cuando son acondicionados 1 o 2 días a 15 °C solamente (Nakamura y col., 1985).

TRATAMIENTOS QUÍMICOS

Óxido nítrico (NO)

El NO es una molécula de señalización que protege a las células vegetales contra el estrés oxidativo y los daños por frío (Valenzuela y col., 2017). Presenta una relación inversa con el etileno, ya que disminuye la concentración de este y retrasa la aparición de los síntomas relacionados con la senescencia. Ej.: El tratamiento de frutos de mango con óxido nítrico disminuye los daños por frío, la transpiración, la producción de etileno y la pérdida de textura durante su frigoconservación (Romojarcasado, 2016).

Brasinoesteroides

Se ha reportado que los brasinoesteroides son eficaces para retrasar los DF en frutos inmaduros. Ej.: En frutos de berenjenas tratados con brasinoesteroides se observó una reducción de los DF, una disminución del pardeamiento de la pulpa, un mantenimiento de la integridad de las membranas y una menor pérdida de agua gracias a la reducción de la acumulación de H_2O_2 y al aumento de la actividad de los compuestos fenólicos, la peroxidasa, la polifenol oxidasa y fenilalanina amonio liasa (Gao y col., 2015).

Etileno

El etileno es considerado la hormona o regulador natural del crecimiento y el desarrollo que regula una amplia gama de procesos bioquímicos, fisiológicos y del desarrollo que pueden dañar a frutos climatéricos y no climatéricos durante la poscosecha (Valenzuela y col., 2017). Presenta la capacidad de inducir o estimular los daños por frío en combinación con las bajas temperaturas y puede actuar como protector o inhibidor de este desorden fisiológico en función del producto hortofrutícola. Ej.: El tratamiento del melón *Honey dew* con 1000 ppm de etileno 20 °C durante 24 horas antes de su frigoconservación a 2.5 °C, redujo en un 75% los daños por frío (Romojaro-Casado, 2016). El uso de inhibidores de la biosíntesis y la respuesta al etileno se ha aplicado en la industria para retrasar la senescencia, mantener la calidad y alargar la vida poscosecha de los productos hortofrutícolas (Valenzuela y col., 2017). Para inhibir el etileno se puede actuar sobre las actividades de las enzimas implicadas en su biosíntesis (ACS y la ACO) o sobre sus receptores. El AVG (Ácido aminoetoxivinilglicina) y el AOA (Ácido aminoocxiacético) inhibe la actividad de la ACS (Romojaro-Casado, 2016). Asimismo, la acción del etileno puede bloquearse de manera reversible con atmósferas con alto contenido en dióxido de carbono, sin embargo, no todos los frutos tienen la misma tolerancia al dióxido de carbono (Toivonen, 2011).

Dentro de los inhibidores químicos encontramos las olefinas cíclicas como el 2,5-norbornadieno (2-5-NBD) que se une a los receptores de etileno e inhibe su respuesta, y heterociclos como el cis-buteno, el ciclopenteno, el trans-ciclooctenos y el cis-ciclooctenos que son potencialmente cancerígenos. Igualmente, encontramos el diazociclopentadieno que sometido a irradiación con luz visible da lugar a un o varios compuestos activos que bloquean la respuesta al etileno, aunque es explosivo a altas concentraciones, el ciclopropeno (CP), el 1-metilciclopropeno (1-MCP) y el 3,3-dimetilciclopropeno (3,3-DMCP) (Romojaro-Casado, 2016). La aplicación del 1-MCP parece bloquear irreversiblemente los sitios de los receptores de etileno cuando es aplicado en forma de gas en concentraciones muy bajas (Toivonen, 2011). El 1-MCP es un control muy eficaz de la maduración de frutos climatéricos, mientras que la aplicación de este compuesto químico no debería ser tan beneficiosa en frutos no climatéricos como la berenjena. Sin embargo, la aplicación del 1-MCP en frutos no climatéricos, aunque no tiene ninguna incidencia sobre el proceso de maduración, ha demostrado ser muy eficaz para prolongar la vida útil y ralentizar la senescencia en casos en los que existe una fuente exógena de etileno (Toivonen, 2011). Ej.: En frutos de berenjena tratados con 1-MCP se observó un mayor mantenimiento de la firmeza del fruto, una reducción de la pérdida de agua y un retraso de la senescencia del cáliz. Además, se ha demostrado induce la tolerancia a los DF. Ej.: En calabacín tratado con 1-MCP se produce un retraso en la aparición de los DF (*pitting* y pérdida de peso de fruto), reducción de la tasa de respiración y de la producción de etileno autocatalítico (Valenzuela y col., 2017). Ej.: El tratamiento con 1-MCP redujo la degradación de compuestos fenólicos en berenjena almacenada a 10 °C (Massolo y col., 2011). De la misma forma que se obtuvieron resultados prometedores, hubo otros muy desalentadores. Ej.: En frutos de kaki conservados a 1 °C y tratados con 1-MCP, se redujeron algunos de los síntomas ocasionados por los DF, pero el 1-MCP no evitaba la aparición de puntos negros en la piel (Romojaro-Casado, 2016).

También se encuentran las tecnologías poscosecha basadas en evitar la presencia del etileno mediante la retirada de este para evitar su acción sobre los frutos, como el tratamiento con el catalizador dióxido de titanio (TiO_2) y absorbentes de etileno formados por arcilla de tipo sepiolita, carbón activo (no necesariamente) y permanganato potásico K_2MnO_4 . La arcilla absorbe el etileno y el permanganato

potásico lo oxida. Otros secuestradores o absorbentes de etileno, en vez de emplear K_2MnO_4 , utilizan metales como el paladio o el platino que generan la oxidación catalítica del etileno (Smith y col., 2009). El paladio presenta una mayor capacidad de absorción que las arcillas y la ventaja que presenta es que mantiene su capacidad de absorción incluso en atmósferas con alta humedad relativa (100%) (Terry y col., 2007).

Poliaminas (PAs)

Las poliaminas son compuestos nitrogenados de bajo peso molecular de naturaleza policatiónica que derivan del amoníaco por sustitución de los átomos de hidrógeno, originándose aminas primarias, secundarias o terciarias. Se sintetizan a partir de la arginina, de la metionina o de la ornitina. Los ejemplos más representativos de las poliaminas son la putrescina, la espermidina y la espermina (Romojaro-Casado, 2016; Valenzuela y col., 2017). Presentan la capacidad de retardar la senescencia al preservar la integridad de la membrana celular y se ha demostrado que están presentes en una gran cantidad de vegetales resistentes a los daños por frío (Galston y Kaur-Sawhney, 1987; Kramer y Wang, 1989). Como una de las rutas de biosíntesis de las poliaminas es derivada del metabolismo de la SAM, cuando la SAM es proporcionada para la síntesis de poliaminas, se inhibe la producción de etileno, por lo que las PAs son consideradas como un punto de control de la biosíntesis del etileno (Faust y Wang, 1992). También reducen la tasa de respiración al convertir en energía las reservas de polisacáridos en presencia de oxígeno, provocando un retraso en el ablandamiento del fruto, en el deterioro y en la pérdida de la calidad, en definitiva, aumentando la vida poscosecha de los productos hortofrutícolas. Ej.: Plantas de tomates sometidas a bajas temperaturas presentaron una acumulación de putrescina y una reducción del 30% de la salida de los electrolitos derivada de los daños por frío, demostrando una posible implicación de las PAs en la tolerancia a los daños por frío y pudiéndose considerar como una acción de defensa de las plantas a las bajas temperaturas más que un síntoma causado por las mismas (Martínez-Tellez y col., 2002). Ej.: En frutos de calabacín tratados con putrescina se visualiza una reducción de los niveles de peróxido de hidrógeno y MDA, una acumulación de ascorbato y poder férrico reductor/antioxidante, un aumento de enzimas antioxidantes (catalasas, ascorbato, glutatión reductasa y peroxidasa), una degradación del ácido aminobutírico y una acumulación de azúcares solubles (glucosa, fructosa y rafinosa) que contribuyen a mejorar la tolerancia a los DF (Palma y col., 2015; Palma y col., 2016; Zhang y col., 2009).

Ácido abscísico (ABA)

El ácido abscísico se acumula en las plantas en respuesta a factores de estrés (sequía, salinidad, altas o bajas temperaturas) debido a que previenen de la deshidratación celular, promoviendo el cierre de los estomas y la acumulación de moléculas osmoprotectoras como la prolina y los azúcares solubles. Igualmente, el ABA puede inducir la respuesta antioxidante y la expresión de genes involucrados en la tolerancia a las bajas temperaturas y la deshidratación (Valenzuela y col., 2017). Ej.: Autores como Chaiprasart y col. (2002) observaron que la pulverización de frutos de plátano con ABA dio lugar a una disminución de la lesión por frío. Aunque, también se estudió que la aplicación de ABA a hojas de tomate indujo la salida de electrolitos, uno de los primeros síntomas de *chilling injury* (Kim y col., 2002). Otros autores (Lafuente y col., 1997) no observaron relación entre la aplicación de ABA y la severidad o la levedad de las lesiones producidas por las bajas temperaturas. Esto se atribuye al carácter lipofílico del ABA que le permite interactuar o insertarse entre las colas hidrofóbicas de la membrana celular aumentando la temperatura de transición y la fluidez de la membrana celular (Markhart, 1986).

Ácido salicílico (SA) y ácido jasmónico (JA) o algunos derivados

El ácido salicílico y el ácido jasmónico, así como sus ésteres metílicos, conocidos como salicilato de metilo y metil-jasmonato, son moléculas de señalización natural que mejoran la tolerancia a los DF y mantienen la calidad poscosecha de los productos hortofrutícolas (Carvajal-Moreno, 2014). Se ha demostrado que el tratamiento con metil derivados del ácido jasmónico y el ácido salicílico induce la síntesis de HSPs, aumentando la tolerancia a los daños por frío (Ding y col., 2001; Wang y col., 2006). Además, promueven la acumulación de smHSPs (*Small Heat Shock Protein*), proteínas relacionadas con la patogénesis (PR, *Pathogenesis-Related Protein*) y la oxidasa alternativa (Ding y col., 2001 y Ding y

col., 2002). Previenen del daño oxidativo promoviendo la expresión de genes ANTI-ROS, disminuyendo la fuga de electrolitos, reduciendo la acumulación de MDA y compuestos fenólicos, aumentando la actividad de enzimas antioxidantes (catalasas, glutatión ascorbato y superóxido dismutasa), inhibiendo la actividad de la fenilalanina amoníaco-liasa y la polifenol oxidasa (enzimas que degradan la pared celular), reduciendo peroxidación de lípidos y promoviendo la acumulación de poliaminas (Valenzuela y col., 2017). Asimismo, se sabe que el metil-jasmonato inhibe la acumulación de lignina, aumenta la solubilización de polisacáridos de la pared celular y está involucrado en el metabolismo del ascorbato y glutatión, enzimas implicadas en la prevención del daño oxidativo y en la tolerancia a los daños por frío (Cao y col., 2010; Cai y col., 2011). Ej.: El tratamiento de frutos inmaduros como la berenjena con metil-jasmonato alivia los DF y reduce la producción de etileno (Carrera y col., 2016).

Otros tratamientos

Tratamientos con disoluciones de calcio en forma de nitratos, cloruros y sulfatos generan un incremento de su concentración en los tejidos y desencadenan gradientes que otorgan una mayor tolerancia a los daños por frío (Romojaro-casado, 2016). Se ha demostrado que los tratamientos con calcio reducen la pérdida de firmeza y retienen la calidad de los productos hortofrutícolas debido a que contribuye al mantenimiento de la integridad estructural de las paredes y membranas celulares (Izumi y col., 1995). Marschner (1995) explicó que las bajas concentraciones de calcio aceleran los procesos de senescencia, por lo que un aumento de esta concentración ayuda a prevenir o a disminuir las enfermedades asociadas con el almacenamiento. Ej.: En inmersiones de frutos de fresa en soluciones de CaCl_2 al 1% durante 15 minutos a 45 °C y su posterior almacenamiento a 10 °C durante 8 días, se observó una disminución de la cantidad de DF, de la pérdida de peso y de firmeza, de la descomposición por patógenos fúngicos y de los cambios de color (García-Galiano, 2014).

Se han empleado sustancias químicas como compuestos antioxidantes (etoxiquina, la difenilamina y el benzoato sódico) y fungicidas (benomilo y tiabendazol imidazol), para reducir los daños por frío, pero su uso ha disminuido significativamente debido a su carácter nocivo (Romojaro-casado, 2016). La difenilamina es un antioxidante que inhibe la oxidación de α -farneseno y que puede sustituir a antioxidantes endógenos como el ácido ascórbico y el α -tocoferol. Evita la acumulación de compuestos tóxicos y reduce la tasa de maduración, la tasa de respiración, la producción de etileno, la oxidación de la clorofila y la actividad de enzimas oxidantes (García-Galiano, 2014). Ej.: En frutos de manzana *Granny Smith* conservados en frío durante 4 meses, tratados con difenilamina disuelta en agua y almacenados durante 14 días a temperatura ambiente, se visualizó una reducción de la producción de etileno, de la tasa de respiración, de la pérdida de firmeza y acidez, del cambio de coloración, del desarrollo de fisiopatías y de la maduración del fruto (Lurie y col., 1989).

También se han empleado tratamientos con ácido oxálico. Ej.: Frutos de granada tratados con ácido oxálico y conservados a 2 °C durante 84 días experimentaron menores pérdidas de compuestos fenólicos, un aumento significativo del contenido en ácido ascórbico y un incremento de las fracciones hidrófilas (H-TAA) (Sayyari y col., 2010).

3. TRATAMIENTO CON METIL-JASMONATO EN BERENJENA

3.1 Ruta de biosíntesis

El ácido jasmónico (ácido cis-2'-pent-2'-enil 3-oxo-ciclopentenilacético o $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_3$, abreviado como JA) y sus derivados, como el éster metílico (MeJA), la cis-jasmona y el conjugado con isoleucina (JA-Ile), son reguladores del crecimiento de origen lipídico que colectivamente son conocidos como jasmonatos (JAs) y juegan un papel esencial en las respuestas relacionadas con el estrés (Laredo-Alcalá y col., 2017). El MeJA es un compuesto orgánico volátil que fue descubierto como constituyente de aceites esenciales en *Jasminum grandiflorum*, mientras que el ácido jasmónico fue aislado por primera vez a partir del hongo *Lasiodiplodia theobromae* (Andújar-Moreno, 2019).

En las últimas décadas diversos estudios han intentado explicar cómo las señales de estrés abiótico y biótico son percibidas por las plantas y cómo se desencadena la biosíntesis del JA. Las señales de estrés biótico o abiótico desencadenan la producción de un polipéptido derivado de la hidrólisis de una proteína precursora que se une a un receptor de membrana rico en leucinas y que activa a las fosfolipasas de la membrana celular para que liberen el ácido linolénico, precursor de la síntesis de los JAs. Esto fue visto por primera vez por Pearce y col. en 1991 en frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum*) en los que el daño mecánico generado por insectos promueve la producción de una sistemina (polipéptido de 18 aminoácidos) derivada de la hidrólisis de la prosistemina (proteína precursora). La sistemina se une al receptor de membrana SR160 (rico en leucinas) que activa la vía de señalización de los JAs (Pearce y col., 1991; Scheer y Ryan, 2002; Ryan y Pearce, 2003; Li y col., 2003). Este mismo mecanismo se observó en *Arabidopsis thaliana*, en la que el daño mecánico desencadena la producción de una proteína similar a la sistemina, AtPEP1 (polipéptido de 32 aminoácidos) que deriva de la hidrólisis de la proteína precursora PROPEP1 (polipéptido de 92 aminoácidos). AtPEP1 se une al receptor PEPR1 rico en leucinas (Yamaguchi y col., 2010).

A continuación, el proceso de biosíntesis tiene lugar en el cloroplasto, el peroxisoma y el citoplasma a través de la ruta de los octadecanoídeos. En el cloroplasto el ácido linolénico se convierte en el ácido 12-oxo-fitodienoico (12-oxo-PDA) tras la acción de la lipoxigenasa, la óxido aleno sintasa y la óxido aleno ciclasa. En el peroxisoma se sintetiza ácido jasmónico a partir de 12-oxo-PDA por la actividad del ácido 12-oxo-fitodienoico reductasa (OPR) y 3 ciclos de beta-oxidación. En el citosol, el JA puede ser metabolizado en diferentes compuestos dependiendo de la modificación química del grupo del ácido carboxílico, la cadena lateral del pentenilo o el anillo de pentanona. La cis-jasmona se produce a través de la descarboxilación del JA. El MeJA volátil es producido a partir de la actividad de la metiltransferasa carboxílica del ácido jasmónico y el JA-Ile es catalizado a partir de la actividad de la aminoácido sintasa 1 (JAR1) (Sarafat-Ali y Kwang-Hyun, 2020).

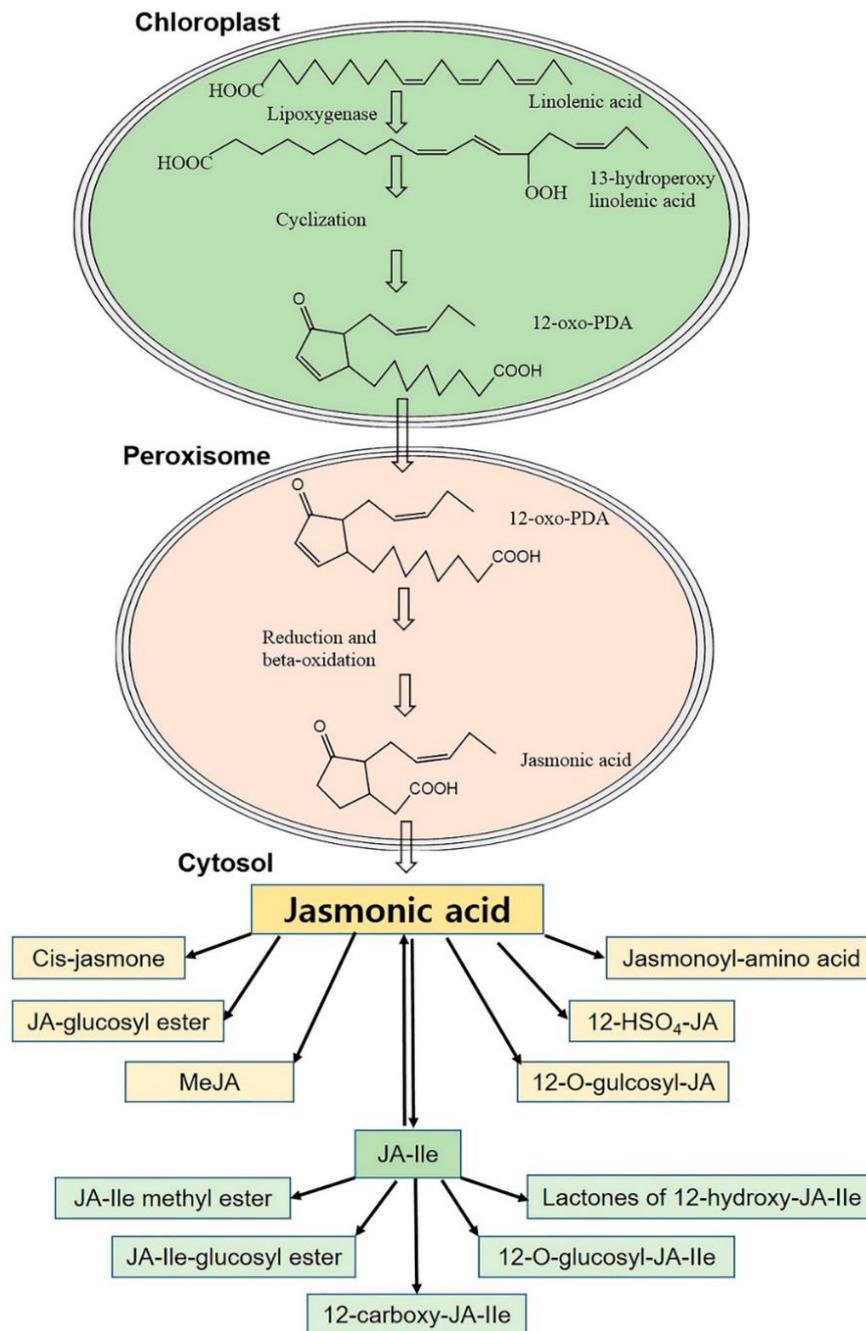


Figura 10. Diagrama esquemático de la biosíntesis y el metabolismo del ácido jasmónico en respuesta al estrés (Sarfat-Ali y Kwang-Hyun, 2020).

3.2 Mecanismo de acción

Después de su síntesis, las señales de JA se transmiten a otros sitios a corta distancia y a larga distancia. Hay dos formas de transmisión a corta distancia: 1) La sistemina producida actúa como molécula de señalización que se transmite a lugares adyacentes a través del apoplasto y el floema para activar la cascada de señalización del ácido jasmónico; 2) El JA y el JA-Ile inducidos por la sistemina actúan como moléculas de señalización que se transmiten a zonas adyacentes (Truman y col., 2007). La transmisión de la señal a larga distancia se realiza de forma sistemática a partir de los haces vasculares y/o de forma aérea. Durante este transporte también se produce una resintetización gracias a las diversas sintetazas de JA presentes en los haces vasculares (Sarfat-Ali y Kwang-Hyun, 2020). El MeJA, en

comparación con el JA, penetra fácilmente en las células gracias a su fuerte volatilidad, por lo que tiene la capacidad de propagarse por difusión aérea a zonas y plantas adyacentes (Farmer y Ryan, 1990).

El mecanismo de transporte nuclear y de localización subcelular de los JAs está regulado por el transportador ABC de alta afinidad AtJAT1/AtABCG16 analizado en levadura. El transportador AtJAT1/AtABCG16 se localiza en la membrana nuclear mediando el transporte de JA-Ile al núcleo, y en la membrana plasmática mediando el transporte de JA al exterior celular. AtJAT1/AtABCG16 regula rápidamente el transporte de JA-Ile cuando la planta está sometida a estrés, pero cuando la concentración de JA alcanza valores muy altos, el transportador de la membrana plasmática se vuelve dominante, reduciendo la concentración intracelular de JA y JA-Ile y desensibilizando la señal del JA para evitar la inhibición del crecimiento y el desarrollo de la planta (Li y col., 2017).

En ausencia de estímulos de estrés bióticos o abióticos, los niveles JA-Ile son bajos, por lo que los factores de transcripción que desencadenan la respuesta al ácido jasmónico están reprimidos por la proteína JAZ (*Jasmonate Zinc finger Inflorescence Meristem (ZIM)-domain protein*). Las proteínas JAZ están formadas por dos dominios conservados que facilitan la interacción proteína-proteína: 1) El dominio central conocido como ZIM; 2) El dominio C-terminal conocido como JAS. Las proteínas JAZ interactúan a través de su dominio ZIM con los factores de transcripción y con la proteína adaptadora NINJA (NOVEL INTERACTOR OF JAZ, elemento de respuesta al etileno asociado a un motivo de represión anfipática, EAR) que recluta a la proteína TOPLESS (TPL) para formar y activar el complejo de represión transcripcional que inhibe la respuesta, permutando el complejo de abierto a cerrado con el reclutamiento adicional de las histonas desacetilasas HDA6 y HDA19. Las tensiones abióticas aumentan la síntesis de JA y su epimerización en JA-Ile. JA-Ile es transportada al núcleo gracias al transportador JAT1. El gen COI1 (*Arabidopsis coronatine insensitive1*) codifica para una proteína F-box que forma parte de la ubiquitina ligasa E3. JA-Ile facilita la interacción de JAZ con la proteína COI1 F-box que se encuentra asociada con las proteínas SKP1 (*Kinetochore Protein 1*) y Cullin, formando el complejo SCF^{COI1}, promoviendo la degradación proteosómica de JAZ a través de la vía del proteosoma 26S y liberando a los factores de transcripción que modulan la respuesta a JA. El Mediador 25 (MED25) es una subunidad que regula la comunicación entre el gen, los factores de transcripción, la RNA polimerasa II (ARN Pol II) y la maquinaria general de transcripción (GTF), por lo que finalmente, los factores de transcripción se unen al elemento G-box que desencadena el reclutamiento de MED25, ARN Pol II y GTF y la expresión de los genes sensibles al jasmonato. Los factores de transcripción que son inhibidos por los represores JAZ son MYB, MYC, NAC, ERF (Ethylene-Responsive Factor), ORCA, FIL (*Filamentous flower*) y WRKY. También se ha demostrado que la señalización del JA induce la cascada de las MAP quinasa, los canales de calcio y muchos otros procesos que interactúan con moléculas de señalización como el etileno, el ácido salicílico, las auxinas y el ácido abscísico (Sarafat-Ali y Kwang-Hyun, 2020; Ruan y col., 2019). Schilmiller y Howe (2005) demostraron que el ácido jasmónico provoca efectos fisiológicos sobre las plantas similares a los del ácido abscísico (Laredo-Alcalá y col., 2017).

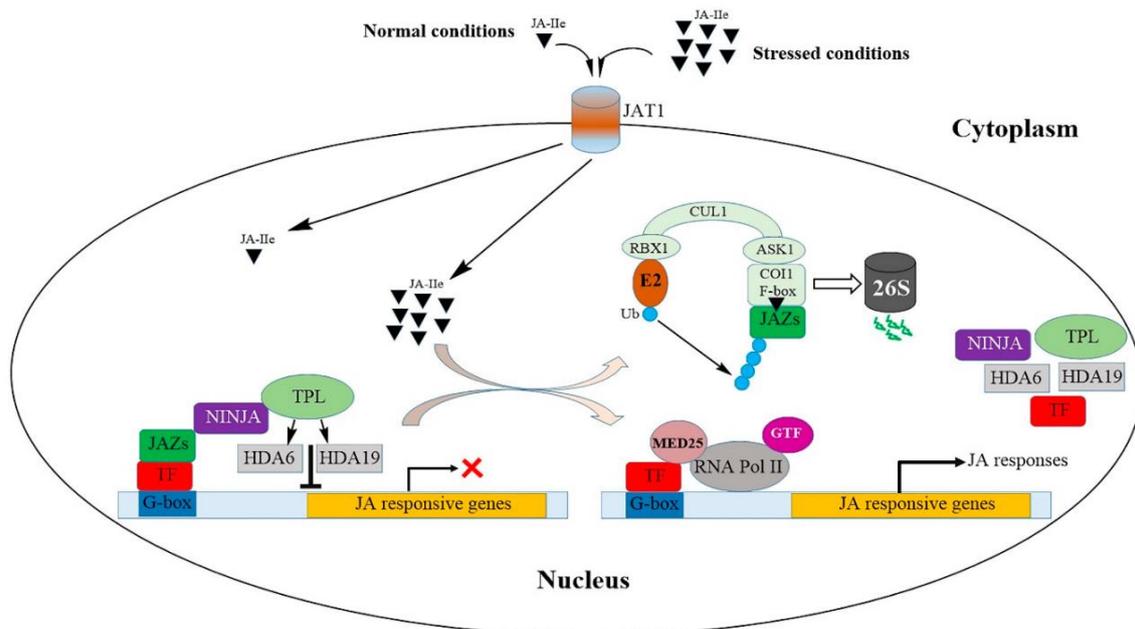


Figura 11. Percepción del ácido jasmónico y transducción de señales durante situaciones de estrés (Sarafat-Ali y Kwang-Hyun, 2020).

3.3 Efectos fisiológicos desencadenados en respuestas a las bajas temperaturas

El MeJA es considerado un regulador endógeno que tiene un impacto significativo en las respuestas de las plantas frente a los estreses abióticos y bióticos, presentando la capacidad de retrasar el desarrollo de los daños por frío (Shi y col., 2019). El tratamiento con MeJA en plátano induce la expresión de los factores de transcripción MYC y de genes de respuesta al frío (*MaCBF1*, *MaCBF2*, *MaCOR1*, *MaKIN2*, *MaRD2*, *MaRD5*, etc.) tras su frigoconservación, reduciendo así los síntomas ocasionados por los daños por frío (Sarafat-Ali y Kwang-Hyun, 2020). Sin embargo, durante la conservación en frío, el gen MYC se activa rápidamente en respuesta al MeJA exógeno y resintetiza una gran cantidad de JAs en la planta para protegerse de los DF. En definitiva, se ha demostrado que el tratamiento exógeno con MeJA puede inducir las proteínas de choque térmico o chaperonas, aumentar la síntesis de antioxidantes, reducir la actividad de la lipoxigenasa e incrementar la resistencia de las plantas a los daños causados por frío (Ruan y col., 2019). La tolerancia a los DF se debe a que el ácido jasmónico JA y sus precursores desencadenan una serie de respuestas de defensa en las células. El MeJA induce a ROS o las especies reactivas de oxígeno que son radicales libres, como el anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo (OH^\cdot) el radical perhidroxilo (HO_2^\cdot) y el radical peroxilo (ROO^\cdot), así como moléculas no radicales, como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el singlete de oxígeno (1O_2). Asimismo, el MeJA promueve la producción de especies reactivas de nitrógeno (RNS). Cuando los niveles de estas especies reactivas exceden los mecanismos de defensa, se dice que la célula se encuentra en un estado de “estrés oxidativo” y puede llegar a ser tóxico y perjudicial, por lo que otro de los efectos que desencadena el tratamiento con MeJA es la producción de compuestos antioxidantes que alivian este estrés: 1) Enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), la guayacol peroxidasa (G-POD), la ascorbato peroxidasa (APX), la glutatión reductasa (GR), la monodehidroascorbato reductasa (MDHAR) y la dehidroascorbato reductasa (DHAR); 2) Potentes antioxidantes no enzimáticos como el ascorbato (AsA), el glutatión (GSH), los carotenoides, los tocoferoles y los fenoles. En resumen, la aplicación de MeJA reduce el estrés oxidativo generado por una situación de estrés abiótico o biótico. Por otra parte, el MeJA también estimula la transducción de señales moleculares y la regulación de la expresión de los genes que conduce a la acumulación de metabolitos secundarios como polifenoles, terpenoides, flavonoides y alcaloides (Ho y col., 2020); sin

olvidar lo que se comentó en el apartado 2.6 de esta misma revisión bibliográfica sobre la aplicación de JA (y/o sus derivados) y el SA como tratamiento químico para reducir los DF.

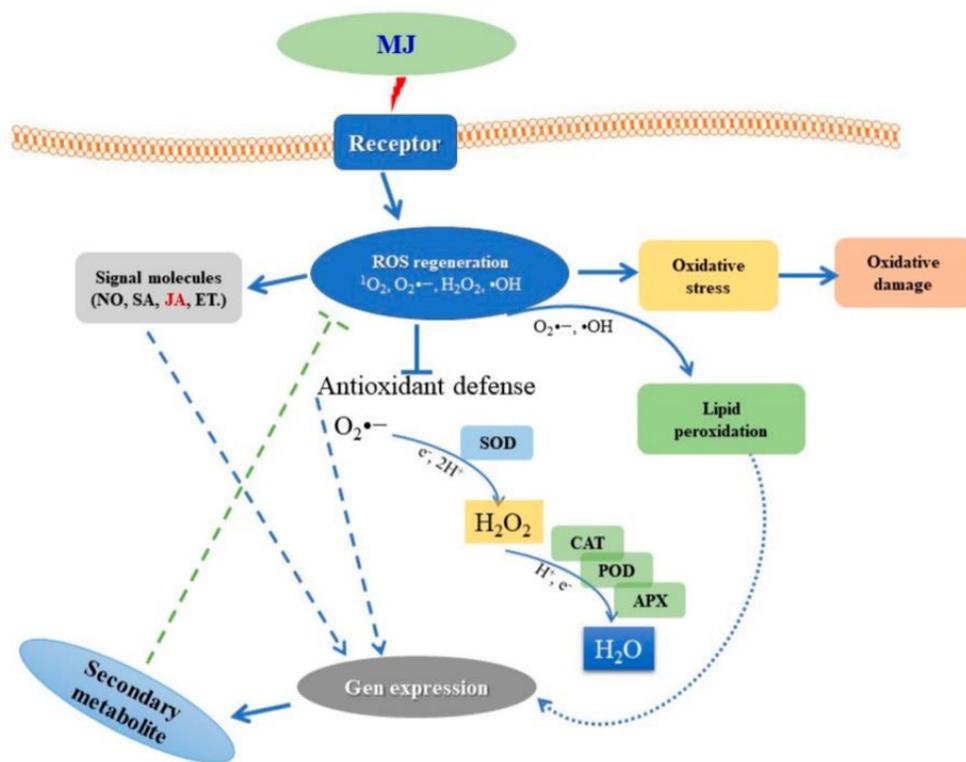


Figura 12. Mecanismo general de respuesta al MeJA (MJ) (Ho y col., 2020).

3.4 Casos experimentales

Efecto del JA en el crecimiento y en la actividad de algunas enzimas en embriones de berenjena cultivados in vitro bajo condiciones de salinidad (Manar y col., 2013).

Como material vegetal se empleó una variedad local tolerante a la sal (*Mardin Kiziltepe*) y una variedad sensible (*Kemer*). Los embriones de berenjena fueron tomados a los 32 días de edad y se trasplantaron a un medio MS (*Murashige & Skoog*) libre de hormonas compuesto por un 2% sacarosa y un 0.7% agar a pH 5.7. Seguidamente, se añadieron distintas concentraciones de NaCl y JA en diferentes momentos del experimento, obteniendo los siguientes grupos:

- A. Control (14 días de cultivo en MS).
- B. Control (10 días de cultivo en MS, transferidos al medio MS al 5º día).
- C. 10 μM JA (14 días).
- D. 20 μM JA (14 días).
- E. 100 mM NaCl (14 días).
- F. 10 μM JA + 100 mM NaCl (14 días).
- G. 20 μM JA + 100 mM NaCl (14 días).
- H. 10 μM JA (4 días, pretratamiento) + 100 mM NaCl (10 días).
- I. 20 μM JA + (4 días, pretratamiento) + 100 mM NaCl (10 días).

Los embriones fueron incubados durante 21 días a 25 ± 1 °C y 16/8 horas de luz/oscuridad y se calculó el porcentaje de germinación y la actividad de las enzimas antioxidantes (SOD, CAT y APX). La tasa de germinación más alta se obtuvo en los grupos Control A y B, 100 mM NaCl y 10 μM JA (pretratamiento)

+ 100 mM NaCl de ambas variedades, siendo más alta la tasa de germinación en la variedad resistente (*Mardin Kiziltepe*) con un 98% y menos alta en la variedad sensible (*Kemer*) con un 86% en el grupo 100 mM NaCl. Esto autores explican que se debe a que el JA inhibe la germinación de las semillas y coinciden con Carrera-Cabanzo (2016) en afirmar que el MeJA es más efectivo en comparación con el ácido salicílico (SA), pero la pregunta es la siguiente: ¿por qué el pretratamiento con JA hace que plantas sometidas a condiciones de salinidad presenten una alta tasa de germinación? Si el JA se aplica de forma individual o se aplica de forma simultánea al NaCl no presenta efectos beneficiosos sobre el crecimiento y desarrollo de la planta, pero si se administra de forma previa al estrés, supone una defensa y aporta tolerancia frente a estreses bióticos y abióticos como la salinidad, la temperatura, presencia de metales pesados, etc., ya que, tras desencadenar ROS, promueve la actividad de diversas enzimas y compuestos antioxidantes. De hecho, se visualizó un incremento de CAT, SOD y APX gracias a la aplicación de JA y NaCl. La mayor actividad de SOD se dio en la planta tolerante en el grupo 100 mM NaCl y la mayor actividad de CAT y APX se dio en la planta tolerante en el grupo 10 μ M JA (pretratamiento) + 100 mM NaCl. Esto demuestra cómo la variabilidad genética es una grandiosa herramienta para la selección y el mejoramiento de la tolerancia al estrés.

El MeJA retrasa la maduración y la senescencia de frutos no climatéricos como la berenjena (Fan y col., 2016).

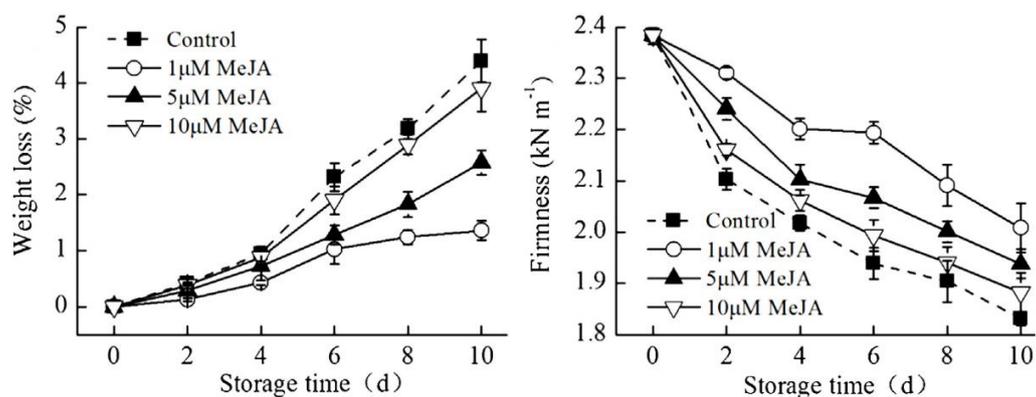
Se evaluó el efecto del tratamiento con MeJA sobre berenjenas almacenadas a 20 °C y tratadas con diferentes concentraciones de MeJA formando los siguientes grupos: Control (0 μ M), 1 μ M, 5 μ M y 10 μ M. Para ello se determinó la calidad sensorial del fruto (mediante una escala hedónica de nueve puntos basada en la apariencia visual, el oscurecimiento del cáliz y la aceptabilidad), la pérdida de peso y de firmeza, la producción de etileno, el pardeamiento del cáliz, el contenido en fenoles, la concentración de antocianinas y la actividad de PPO, POD y CAT.

En el análisis de la calidad sensorial del fruto se visualizó como las muestras Control presentaban una reducción de la calidad debido a la deshidratación del fruto, ya que tras 10 días de conservación a 20 °C disminuyó de 9 puntos a 4.63. Tras el mismo período de conservación y las mismas condiciones ambientales, se obtuvo una puntuación de 6.27 puntos en frutos tratados con 1 μ M MeJA, 5.87 puntos en frutos tratados con 5 μ M MeJA y 4.91 puntos en frutos tratados con 10 μ M MeJA.

Se percataron de una reducción del peso y la firmeza durante el período de conservación, siendo los frutos Control y los tratados con 10 μ M MeJA los que mayor pérdida de peso y de firmeza experimentaron. En frutos tratados con 1 μ M MeJA y con 5 μ M MeJA se observó una menor pérdida de peso y de firmeza. El orden de mayor a menor reducción del peso y la firmeza sería el siguiente: Control > 10 μ M MeJA > 5 μ M MeJA > 1 μ M MeJA.

El MeJA disminuyó la producción de etileno, por lo que, si se ordena de mayor a menor producción de etileno de los diferentes grupos de frutos, el resultado sería el siguiente: Control > 10 μ M MeJA > 5 μ M MeJA > 1 μ M MeJA. Fan y col. (2016) explican que se debe a que las grandes concentraciones de MeJA inducen la expresión de genes relacionados con la biosíntesis del etileno y las concentraciones menores ejercen el efecto contrario, coincidiendo con los resultados obtenidos por Ruiz y col., en 2013.

Gráfico 6. Pérdida de peso y firmeza en frutos tratados y no tratados con MeJA y conservados a 20 °C durante 10 días (Fan y col., 2016).



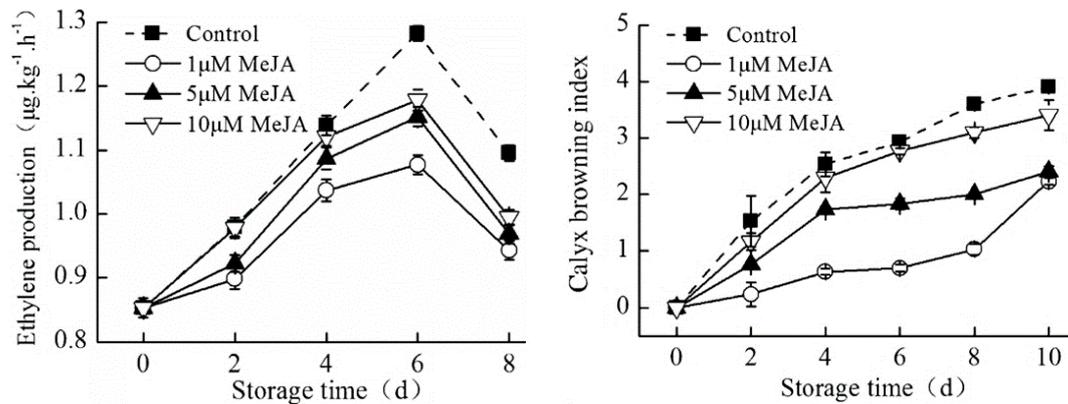
El cáliz de la berenjena se mantuvo más verde en los frutos tratados con 1 μM MeJA y 5 μM MeJA, mientras que el pardeamiento fue mayor y similar en los frutos Control y en los tratados con 10 μM MeJA. El orden de mayor a menor pardeamiento de cáliz es el siguiente: Control > 10 μM MeJA > 5 μM MeJA > 1 μM MeJA.

El contenido en fenoles tanto en el cáliz como en la pulpa disminuyó en todos los grupos de frutos a lo largo del almacenamiento, pero los frutos tratados con MeJA presentaron un mayor contenido en fenoles independientemente de la concentración del tratamiento y en todas las fechas de muestreo. El contenido en fenoles en los frutos tratados con 1 μM MeJA y 5 μM MeJA fue mayor que en los frutos Control. Los frutos tratados con 10 μM MeJA presentaron un contenido en fenoles similar a los frutos Control. El orden de mayor a menor reducción del contenido en fenoles es el siguiente: Control > 10 μM MeJA > 5 μM MeJA > 1 μM MeJA.

La actividad enzimática y la expresión génica de la PPO mostró un incremento a los dos días de almacenamiento y alcanzó su máximo al cuarto día en el cáliz y al sexto día en la pulpa. La PPO presentó niveles superiores de actividad en la fruta Control y niveles inferiores en los frutos tratados con 1 μM MeJA y 5 μM MeJA. El orden de mayor a menor actividad de PPO es el siguiente: Control > 10 μM MeJA > 5 μM MeJA > 1 μM MeJA.

Se observó una correlación positiva entre la actividad del PPO y el pardeamiento, y una correlación negativa entre la actividad de la PPO y el contenido en fenoles. Esto se debe a que la PPO oxida y degrada a los fenoles cuando en una situación de estrés (daño mecánico, bajas temperaturas, insectos...) se genera un daño estructural que elimina la compartimentación que los separa y desencadena el pardeamiento del fruto (Concellón y col., 2004; Concellón y col., 2012).

Gráfico 7. Producción de etileno y pardeamiento del cáliz en frutos tratados y no tratados con MeJA y conservados a 20 °C durante 10 días (Fan y col., 2016).

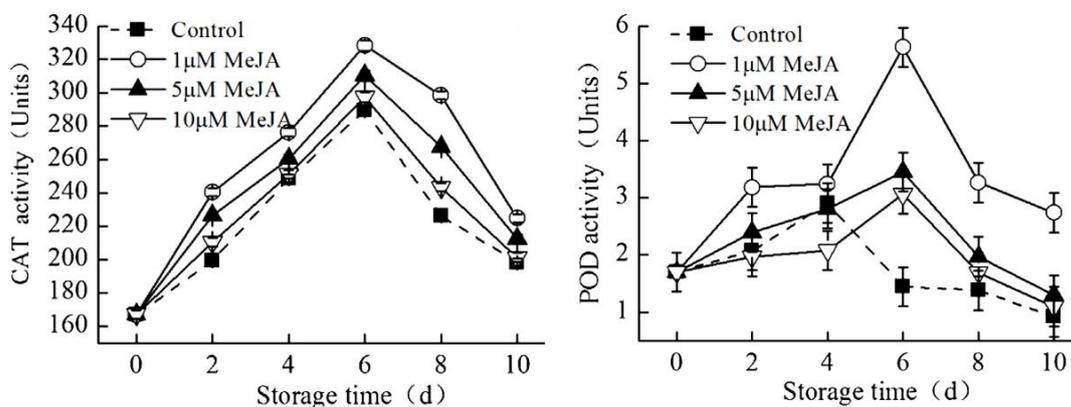


Los niveles más altos de actividad y expresión génica de POD y de CAT se observó en los frutos tratados con 1 µM MeJA, seguido de los frutos tratados con 5 µM MeJA. El orden de mayor a menor actividad y expresión génica de POD y CAT es el siguiente: 1 µM MeJA > 5 µM MeJA > 10 µM MeJA > Control.

Esto se debe a que el MeJA promueve la síntesis y la actividad de enzimas antioxidantes en respuesta a una situación de estrés. La concentración de antocianinas disminuyó a lo largo del almacenamiento, pero los frutos tratados con MeJA son los que presentaron niveles mayores de antocianinas debido a que el MeJA promueve la síntesis de compuestos antioxidantes como las antocianinas (Ho y col., 2020)

Estos resultados manifiestan que los frutos tratados con 1 µM MeJA son los más prometedores en cuanto a resultados, demostrando así la importancia de la concentración de MeJA aplicada y sus efectos en la maduración y senescencia del fruto.

Gráfico 8. Actividad de CAT y POD en frutos tratados y no tratados con MeJA y conservados a 20 °C durante 10 días (Fan y col., 2016).



Implicaciones del MeJA y el SA sobre la tolerancia a la frigoconservación en berenjena (Carrera-Cabanzo, 2016).

Como material vegetal se emplearon berenjenas de la variedad *Thelma* a las que se le aplicaron distintos tratamientos:

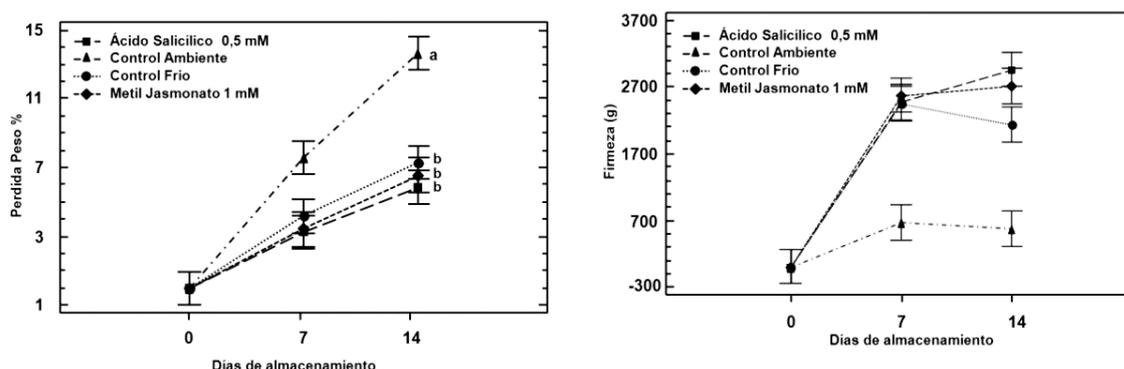
- A. Control frío.
- B. Control a temperatura ambiente.
- C. 1 mM MeJA.
- D. 0.5 mM SA.

Excepto el control a temperatura ambiente, el resto de los frutos se almacenaron en una cámara frigorífica a 4 ± 2 °C durante 14 días. Se evaluaron los daños por frío mediante un análisis visual en el que se determina el daño superficial y se le asigna un porcentaje o un índice global de daños por frío, la pérdida de peso, la firmeza, la producción de CO₂ o tasa respiratoria y generación de etileno.

Los daños por frío aumentaron a lo largo del almacenamiento. No hubo diferencias significativas entre los frutos control y los tratados con SA, mientras que los frutos tratados con MeJA son los que presentaron un menor porcentaje de daños por frío a los siete días de conservación, posteriormente los daños por frío aumentaron.

Se produjo una pérdida de peso y del nivel firmeza en todos los tratamientos a lo largo del período de conservación, pero los frutos pertenecientes al grupo control a temperatura ambiente fue el que presentó una mayor pérdida. Si se ordena de mayor a menor pérdida de peso y de firmeza, el resultado sería el siguiente: Control a temperatura ambiente > Control frío > 1 mM MeJA > 0.5 mM SA. Esto demuestra como los frutos tratados con SA presentaron una menor pérdida de peso y de firmeza durante los 14 días de almacenamiento.

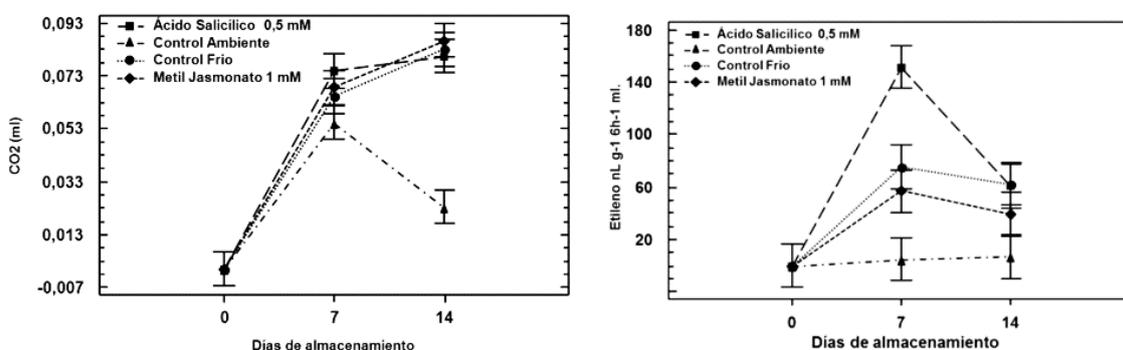
Gráfico 9. Porcentaje de pérdida de peso y firmeza de frutos tratados y no tratados con MeJA o SA almacenados o no a 4 °C (Carrera-Cabanzo, 2016).



La producción de etileno experimentó un máximo a los siete días en todos los tratamientos excepto en el grupo control a temperatura ambiente que experimentó una producción de etileno constante como es común en frutos no climatéricos (Kader, 1992 en Mohammed y Brecht, 2003).

La tasa de respiración o producción de CO₂ experimentó un máximo a los siete días de conservación. No hubo diferencias significativas entre los frutos tratados con MeJA, SA y el control frío, pero sí las hubo entre estos y los frutos conservados a temperatura ambiente.

Gráfico 10. Porcentaje de pérdida de peso y firmeza de frutos tratados y no tratados con MeJA o SA almacenados o no a 4 °C (Carrera-Cabanzo, 2016).



En definitiva, los resultados de este trabajo demuestran que el tratamiento con MeJA supone una potente herramienta para disminuir los DF.

Efecto del acondicionamiento a bajas temperaturas (*Low Temperature Conditioning* o en sus siglas en inglés *LTC*) combinado con el MeJA en la tolerancia de la berenjena (*Solanum melongena* L.) a los daños por frío (Shi y col., 2019).

Se examinó la capacidad del tratamiento LTC combinado con el MeJA para reducir y retrasar el desarrollo de los DF en frutos de berenjena (*Solanum melongena* var. *Brigitte*) a las que se le aplicaron diferentes tratamientos:

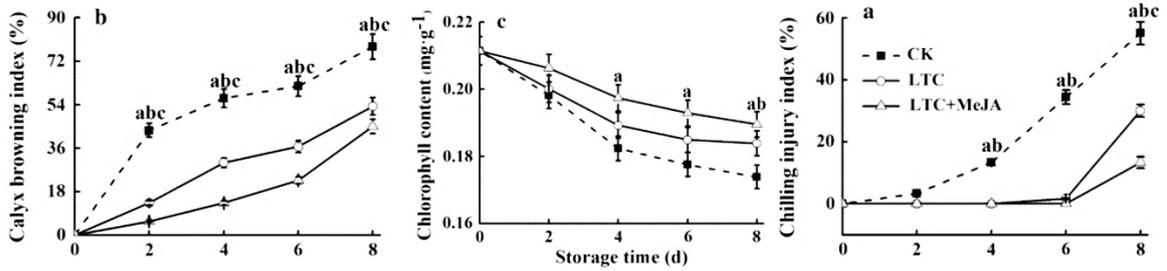
- A. Grupo control: fue directamente conservado a 4 °C.
- B. LTC: fue inicialmente conservado a 13 °C antes de su conservación final a 4 °C.
- C. LTC + MeJA: fue inicialmente conservado a 13 °C y bañado en 10 mol/L de MeJA durante 10 minutos antes de su conservación final a 4 °C.

Se evaluó el pardeamiento del cáliz y su contenido en clorofila, el índice de daños por frío, el contenido de malondialdehído (MDA) y fenoles en la pulpa y el cáliz, y la expresión y actividad de la PPO y de las enzimas antioxidantes CAT y POD en la pulpa y el cáliz.

Los frutos tratados con LTC + MeJA sufrieron menos daños por frío que los tratados con LTC y el grupo control, siendo este último el que presentó un mayor número de DF.

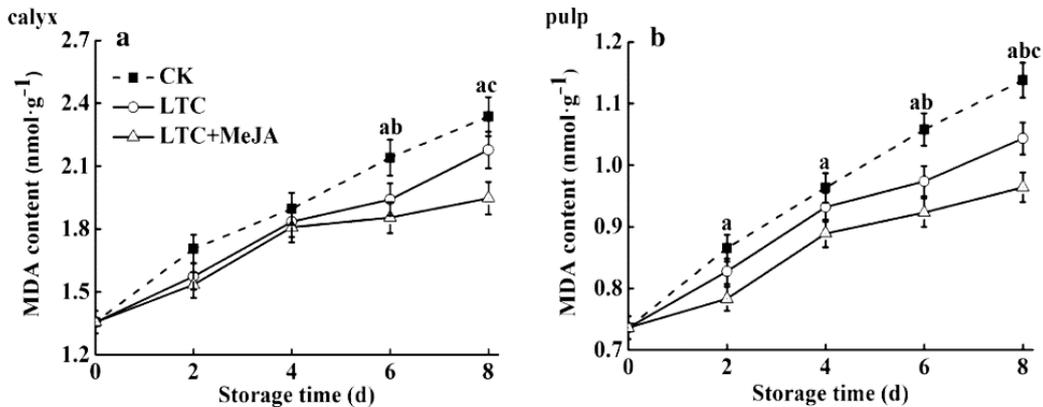
Todos los frutos mostraron pardeamiento del cáliz y degradación de la clorofila a lo largo del período de conservación, pero los frutos tratados con LTC + MeJA lograron retrasar el pardeamiento (40% al octavo día) y la degradación del cáliz (disminuyó de 0.212 mg/g a 0.198 mg/g) en comparación con el control (presentó 70 % de pardeamiento al octavo día y un contenido final de clorofila de 0.175 mg/g). El orden de mayor a menor pardeamiento del cáliz y degradación de la clorofila es el siguiente: Control > LTC > LTC + MeJA.

Gráfico 11. Pardeamiento del cáliz, contenido en clorofila y el índice de daños por frío de los frutos control, LTC y LTC + MeJA almacenados a 4 °C (Shi y col., 2019).



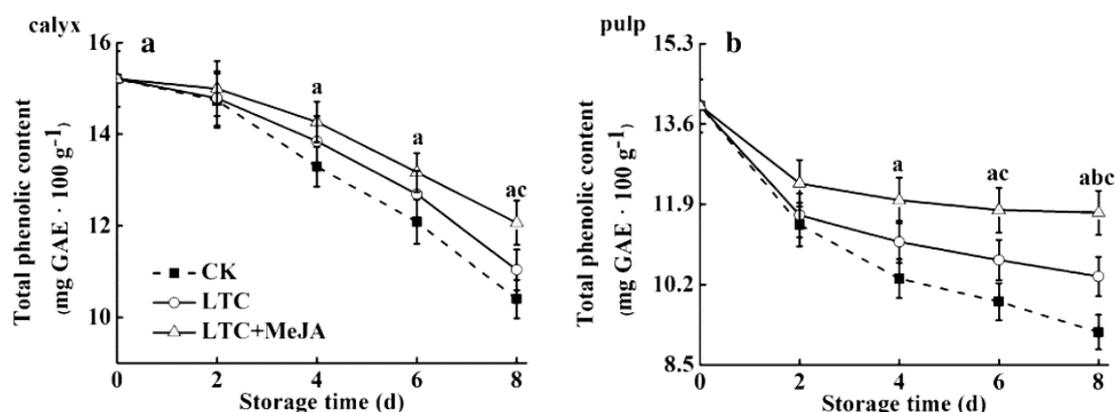
El contenido de MDA aumentó a en todos los frutos durante el almacenamiento tanto en el cáliz como en la pulpa, pero los frutos tratados con LTC + MeJA presentaron un menor contenido de MDA en comparación con los frutos control, demostrando así que el tratamiento retrasó la pérdida de integridad de la membrana y el desarrollo del estrés oxidativo. El orden de mayor a menor contenido de MDA es el siguiente: Control > LTC > LTC + MeJA.

Gráfico 12. Contenido de MDA del cáliz y la pulpa de los frutos control, LTC y LTC + MeJA almacenados a 4 °C (Shi y col., 2019).



El contenido de compuestos fenólicos disminuyó tanto en la pulpa como en el cáliz a lo largo del período de conservación. El orden de mayor a menor contenido de fenoles es el siguiente: LTC + MeJA > LTC > Control.

Gráfico 13. Contenido de compuestos fenólicos del cáliz y la pulpa de los frutos control, LTC y LTC + MeJA almacenados a 4 °C (Shi y col., 2019).



La actividad de la PPO aumentó a lo largo del período de conservación de forma gradual tanto en el cáliz como en la pulpa, aunque su actividad fue mayor en los frutos control. El orden de mayor a menor actividad de la PPO tanto en cáliz como en la pulpa es el siguiente: Control > LTC > LTC + MeJA. La expresión génica de la PPO en el cáliz aumentó de forma gradual en todos los frutos, pero la expresión de los genes de la PPO en la pulpa en los frutos LTC + MeJA experimentó un pico a los dos días y luego disminuyó, mientras que en el fruto control experimentó este pico a los cuatro días. El orden de mayor a menor expresión génica de PPO tanto en el cáliz como en la pulpa es el siguiente: Control > LTC > LTC + MeJA.

La actividad y la expresión génica de POD aumentó en todos los frutos durante el almacenamiento, aunque los frutos tratados con LTC + MeJA presentó una mayor actividad y expresión génica de la enzima POD que los tratados con LTC y el grupo control, siendo este último el que presentó una menor actividad. La actividad enzimática y la expresión génica de CAT también fue mayor en los frutos LTC + MeJA (alcanzó un máximo en la actividad enzimática al 2º y en la expresión génica la 4º día) en comparación con los frutos control (alcanzó un máximo en la actividad enzimática al 4º y en la expresión génica la 2º día). El orden de mayor a menor actividad y expresión génica de la POD y CAT sería el siguiente: LTC + MeJA > LTC > Control.

Estos resultados muestran como el índice de daños por frío presenta una correlación positiva con el pardeamiento del cáliz, el contenido en MDA y la expresión génica y la actividad de la PPO, pero presenta una correlación negativa con el contenido en clorofila y en compuestos fenólicos, y con la expresión y la actividad de las enzimas antioxidantes CAT y POD. Asimismo, se observó que el tratamiento de berenjenas almacenadas a 4 °C con LTC + MeJA disminuyó la degradación de la clorofila y de los compuestos fenólicos totales, redujo la expresión de los genes y la actividad enzimática de la PPO, retrasó la acumulación de MDA y aumentó la actividad y la expresión de las enzimas antioxidantes CAT y POD, permitiendo mantener la calidad organoléptica de los frutos y demostrando el potencial del tratamiento combinado de LTC + MeJA para aumentar la tolerancia al frío de las berenjenas.

Los análisis de promotores y los perfiles transcripcionales del gen de la polifenol oxidasa 1 de la berenjena (*SmePPO1*) revelan una respuesta diferencial al MeJA exógeno y al SA (Shetty y col., 2012).

La PPO presenta un importante papel en la defensa contra patógenos debido a que oxida los compuestos fenólicos en quinonas altamente reactivas que alquilan los aminoácidos esenciales de las proteínas de las que se alimentan los patógenos, volviéndose antinutritivas (Constabel y Ryan, 1998).

Li y Steffens (2000) observaron que la sobreexpresión de los genes de la PPO en plantas de tomate transgénico generaba un aumento de la protección y la tolerancia al patógeno *Pseudomonas syringae* pv. *tomate*, y Thipyapong y col. (2004) demostraron que su inhibición producía un incremento de la susceptibilidad a dicho patógeno. La PPO es una de las principales responsables de las pérdidas poscosecha en muchos frutos. Ej.: Las heridas provocadas por la oxidación de la PPO afectan gravemente a las berenjenas debido a su alto contenido en compuestos fenólicos.

La sistemina es una molécula señal móvil polipeptídica que es esencial para la activación de la PPO a través de la vía de señalización de los octadecanoides (ruta de biosíntesis de los JAs) (Constabel y col., 1995). En berenjena se han descrito los genes *SmePPO1-SmePPO6* que se localizan en una región de 165 kb del cromosoma 8, son el resultado de un proceso de duplicación y de divergencia a partir de un gen ancestral y se organizan en dos clases según su homología estructural: A) *SmePPO1-3* comparten un 80% de homología a nivel de estructura nucleotídica y un 70% a nivel de estructura proteica; B) *SmePPO4-6* comparten un 88% de homología a nivel de estructura nucleotídica y un 80% a nivel de estructura proteica (Shetty y col., 2011).

En esta investigación se analizó la arquitectura molecular de los genes *SmePPO* y su expresión en respuesta a señales de defensa inducidas por el MeJA y el SA.

En los promotores de *SmePPO* se localizaron: 1) Regiones cis reguladoras de la expresión de los genes *SmePPO* en los nódulos radiculares, la transcripción regulada por la luz y la señalización de las Gas (giberelinas); 2) Elementos W-box involucrados en la señalización de defensa de las plantas, la activación de los genes de defensa WRKY inducidos por el SA y el metabolismo de los azúcares; 3) Regiones cis reguladoras que interactúan con los factores de transcripción MYB que están implicados en la expresión de los genes sensibles a los JAs y son responsables de la respuesta al estrés por deshidratación, la señalización de ABA y la biosíntesis de los fenilpropanoides y de los flavonoides. A nivel evolutivo los motivos esencialmente conservados son los elementos de respuesta a la luz y los sitios de unión a los factores de transcripción MYB. Asimismo, se realizó un análisis de los motivos sobreexpresados en estos promotores que demostró que estos motivos sobreexpresados coincidían con las regiones cis reguladoras y que eran ricos en sitios de unión para los factores de transcripción implicados en las vías de biosíntesis de los fenilpropanoides y de los flavonoides, la expresión específica en la raíz y en el endospermo, la respuesta a la deshidratación y al frío, la señalización de defensa y la transcripción regulada por la luz.

En la RT-PCR (*Reverse transcription polymerase chain reaction*) semicuantitativa se observó que el MeJA provocó la expresión de los seis genes *SmePPO* y el SA sólo pudo inducir la expresión de *SmePPO4-SmePPO6*. En el tratamiento conjunto (MeJA + SA) se visualizó como el SA inhibe la expresión de los genes *SmePPO* inducidos por el MeJA. Esto es debido a que el SA es un regulador positivo de la resistencia sistémica adquirida (*Systemic acquired resistance* o SAR) que inhibe la señalización de la defensa mediada por la ruta de los octadecanoides (Doares y col., 1995). De hecho, en tomate, el incremento de los niveles de expresión de la PPO por la sobreexpresión de los genes de la prosistemina (Constabel y col., 1995) fueron similares a los niveles de la PPO cuando las plantas son tratadas con MeJA.

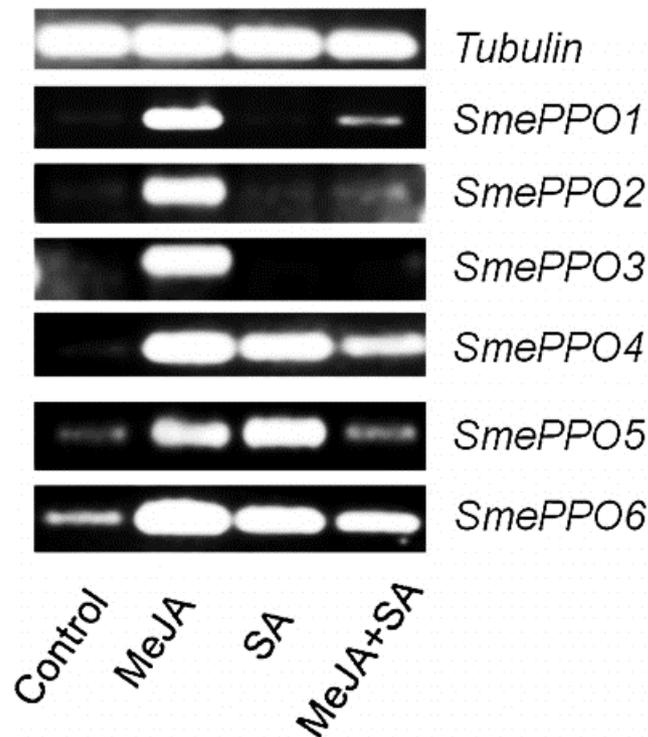


Figura 13. Perfil transcripcional de los genes *SmePPO1-6* inducidos de forma diferencial por el MeJA y el SA. Plántulas de berenjena fueron tratadas con 1 mM SA / 0.1 Mm MeJA / 1 mM SA + 0.1 Mm MeJA durante 5 horas, se extrajo su ARN y se realizó una RT-PCR semicuantitativa tomando el gen de la tubulina como control (Shetty y col., 2012).

A continuación, se diseñó una construcción de delección mediante la amplificación de 4 fragmentos truncados del promotor *SemPROMOTER1*, posteriormente se fusionó con *GUS* (gen chivato) en el vector ZeBaTA, se movilizaron a hojas de tabaco mediante *Agrobacterium* y se trataron las plantas con MeJA y SA. Las plantas tratadas con MeJA son las que mostraron una mayor expresión de *GUS* (mayor pigmentación azul), las tratadas con SA presentaron una menor expresión de *GUS* y las que se le aplicó el tratamiento combinado de SA y MeJA presentaron una actividad antagónica en la que la expresión de *GUS* era suprimida cuando las concentraciones de SA y MeJA eran altas y un efecto sinérgico en el que la expresión de *GUS* era potenciada cuando las concentraciones de MeJA y SA eran bajas. Estos resultados corroboran lo ya demostrado anteriormente, que el MeJA promueve e incrementa la expresión de la PPO y el SA inhibe la respuesta desencadenada por el MeJA.

Este artículo propone un modelo que explica el mecanismo de expresión de los genes *SmePPO1-6* modulado por el MeJA y el SA. La infección por un patógeno necrotrofo o por un insecto herbívoro induce la sistemina que activa la vía de señalización de los octadecanoides para producir JAs, que a su vez activa la expresión de *SmePPO1-6*. La infección por patógenos biotróficos da lugar a la biosíntesis del SA que activa la proteína reguladora NONEXPRESSOR OF PR GENES1 (NPR1) responsable de reprimir la expresión de los genes *SmePPO1-3* inducidos por el MeJA al interactuar con los factores de transcripción WRKY 62/70 y TGA (Spoel y col., 2007). Aunque el SA activa la expresión de los genes *SmePPO4-6* cuando es aplicada de forma independiente, también inhibe su expresión cuando son inducidos por el MeJA. El etileno también induce la expresión de los genes *SmePPO* y regula la interacción entre el SA y el MeJA (Newman y col., 2011). Altos niveles de etileno endógeno inducen la expresión de los genes *SmePPO* que responden a los JAs y bajos niveles de etileno suprimen la

expresión mediada por los JAs mediante el mecanismo independiente de la proteína reguladora NPR1 (Leon-Reyes y col., 2009).

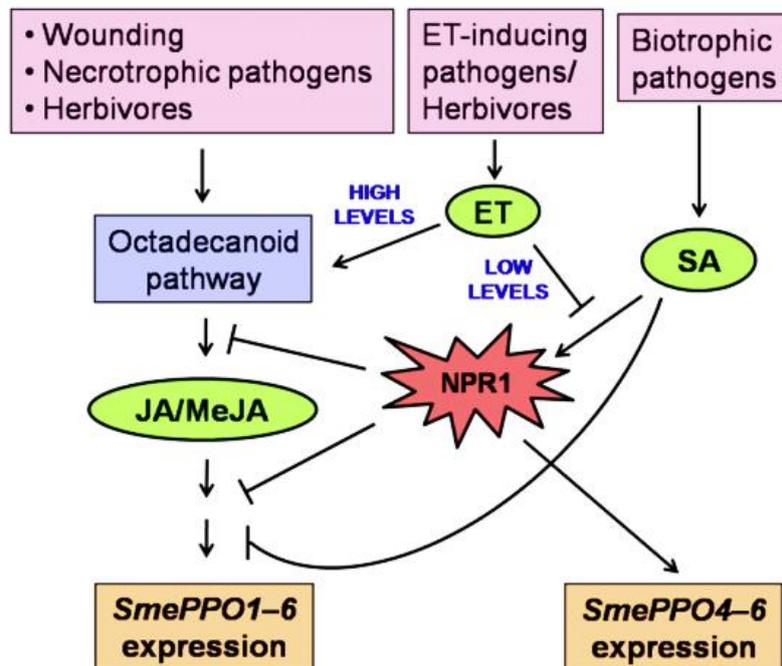


Figura 14. Modelo propuesto para la supresión mediada por el SA de los genes *SmePPO1-6* inducidos por el MeJA (Shetty y col., 2012).

4. APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS

Los daños por frío están asociados a un aumento del estrés oxidativo debido al daño producido en las membranas celulares causado por las bajas temperaturas. En esta revisión bibliográfica, se ha visto cómo los síntomas y el estrés oxidativo generado por los daños por frío pueden reducirse mediante tratamientos químicos o físicos durante la precosecha y la poscosecha, sin embargo, también muchos estudios han demostrado cómo la producción de variedades transgénicas mediante procedimientos biotecnológicos presenta un gran potencial para prevenir y aliviar los daños por frío.

Las principales estrategias biotecnológicas empleadas han sido:

- La sobreexpresión de las enzimas antioxidantes como la catalasa (CAT), la superóxido dismutasa (SOD) o la peroxidasa (POX).
- La acumulación de compuestos antioxidantes como el licopeno, el β -caroteno, los flavonoides o la Vitamina C.
- La sobreexpresión de proteínas de choque térmico o chaperonas.

La mayoría de estos enfoques biotecnológicos se han desarrollado en especies modelo, pero también se ha comprobado su eficacia en frutos inmaduros como la berenjena.

Las plantas que se encuentran en condiciones de estrés emplean diversos mecanismos, como los cambios en la fisiología de la planta y la expresión de genes asociados al estrés, que conducen a la formación de una amplia variedad de metabolitos de bajo peso molecular, particularmente

osmolitos y proteínas que hacen frente al estrés. Los osmolitos como los fructanos, la trehalosa, el manitol, el ononitol, el mio-inositol, la prolina, la glicina-betaína y las poliaminas se acumulan en grandes cantidades controlando el potencial osmótico, el equilibrio iónico, la integridad de la membrana celular, el contenido de radicales libres de oxígeno y la protección de la cromatina en condiciones de estrés. Con el propósito de obtener berenjenas transgénicas tolerantes a la salinidad, al déficit de agua y a las bajas temperaturas, Prabhavathi y col. (2002) introdujeron el gen bacteriano manitol-1-fosfodehidrogenasa (*mtlD*) en berenjena por medio de una transformación mediada por *Agrobacterium*, y determinaron su tolerancia al estrés salino (NaCl), a la sequía (polietilenglicol o PEG) y al estrés por frío en condiciones de crecimiento *in vitro* e *in vivo*. Los resultados fueron de éxito, por lo que se corroboró la eficacia del gen bacteriano *mtlD* para inducir la tolerancia al estrés abiótico en berenjena.

Maestrelli y col. (2003) explicaron que la partenocarpia confiere una serie de ventajas a los cultivos hortícolas, como la producción de frutos en condiciones adversas y sin semillas, y que la partenocarpia en berenjena se ha obtenido mediante ingeniería genética utilizando un gen quimérico y un promotor específico del óvulo que permite a la planta aumentar su contenido y/o actividad del ácido indol-3-acético. Demostraron que las berenjenas partenocárpicas almacenadas a -20 °C son más tolerantes a los daños por frío debido a que mostraban un pardeamiento más lento y una menor pérdida firmeza.

Diversas investigaciones han demostrado que las poliaminas están presentes en una gran cantidad de vegetales resistentes a los daños por frío. Por este motivo, Raman-Prabhavathi y Venkat-Rajam (2007) decidieron introducir un gen clave en la biosíntesis de las poliaminas, *adc* o el gen de la arginina descarboxilasa, bajo el control del promotor constitutivo del virus del mosaico de la coliflor, CaMV35S, con el fin de obtener berenjenas tolerantes a múltiples presiones abióticas, entre las que encontramos las bajas temperaturas.

Wan y col. (2014) expresaron los genes de *Arabidopsis thaliana C-repeat-binding factor 3 (AtCBF3)* y *cold-regulated 15A (AtCOR15A)* en plantas de berenjena, mediante una transformación mediada por *Agrobacterium* y ambos genes impulsados por el promotor *RESPONSIVE TO DESSICATION 29A* de *Arabidopsis thaliana (AtRD29A)*. Obtuvieron dos líneas transgénicas homocigotas independientes tolerantes al frío que experimentaron un aumento del contenido en prolina y de la actividad antioxidante de la catalasa y la peroxidasa, y una disminución de la conductividad eléctrica relativa y el contenido en malondialdehído en comparación con las plantas de tipo silvestre.

Zhang y col. (2016) introdujeron el gen *SmMYB1* que codifica para el factor de transcripción R2R3 MYB en una variedad de berenjena que no acumula antocianinas mediante una transformación mediada por *Agrobacterium*. Se obtuvieron berenjenas transgénicas que presentaban altas concentraciones de antocianinas en las hojas, en los pétalos, en los estambres, en la cáscara y en la pulpa del fruto, una disminución en la pérdida de agua, la fuga de electrolitos y el daño membranal, y un aumento de la actividad antioxidante, de la tolerancia al estrés por congelación y de la capacidad de recuperación en condiciones de recalentamiento.

Xiao y col. (2017) transfirieron a *Solanum melongena* L. el gen de la isopentenil transferasa (*IPT*), un gen biosintético de las citoquinas, acoplado al promotor *SAG12* y por medio de una transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. Obtuvieron plantas transgénicas de berenjenas que experimentaron un retraso en el proceso de senescencia de las hojas y una mayor tolerancia al estrés por frío y la sequía. También presentaron un aumento en el contenido de clorofila, carotenoides, ácido indolacético, zeatina ribósido y ácido giberélico, y una disminución en los niveles de ácido abscísico y MDA. Así mismo, el rendimiento, la tasa de crecimiento vegetativo y la actividad antioxidante fueron más altos en las plantas transgénicas que en las plantas de berenjena de tipo silvestre.

Las proteínas WRKY son una familia de factores de transcripción específicos de plantas que presentan un dominio WRKY altamente conservado en su secuencia de proteínas, que consiste en una secuencia central conservada WRKYGQK y un motivo de dedos de zinc. Los factores de transcripción WRKY se unen a los promotores de los genes diana reconociendo las secuencias (T)TGAC(C/T). A pesar del importante papel que desempeñan en el crecimiento y en el desarrollo de las plantas, la función más importante de las proteínas WRKY es la regulación de la transcripción de la respuesta al estrés biótico y abiótico. Yang y col. (2020a) observaron mediante la metodología del RNA-seq que los genes WRKY se expresaban de forma diferencial en la respuesta de la berenjena al estrés por frío y confirmaron mediante VIGS (*Virus-induce gene silencing*) que los genes *SmWRKY26* y *SmWRKY32* presentaban la capacidad de inducir la tolerancia al estrés por frío en berenjena.

Zhou y col. (2020) aislaron el gen de ICE (*inducer of CBF expresión*) de *Solanum melongena* (*SmICE1a*), que codifica para un factor de transcripción de tipo hélice-bucle-hélice (bHLH) que se une al sitio de reconociendo MYC de los promotores de los genes *SmCBF* (*C-repeat-binding factor*), codificando para otro factor de transcripción que induce la expresión de los genes de respuesta al frío COR (*cold-regulated*), un conjunto de grupo de genes controlados como una unidad y conocidos como el regulón CBF. Seguidamente, sobreexpresaron *SmICE1a* en *Arabidopsis thaliana* bajo el promotor 35S, provocando una reducción de la fuga de electrolitos y del contenido de MDA, un aumento del contenido en prolina y de su tolerancia al estrés por congelación, y probando la importante función que desempeña *SmICE1a* en la respuesta al frío en berenjena.

Otra herramienta clásica para tratar los daños por frío, que se lleva practicando desde que el humano se hizo agricultor, es la selección, el cruce y el cultivo de las variedades más tolerantes dentro de una misma especie. Esta variabilidad se debe a que el fenotipo no sólo depende del genotipo, sino que también depende del ambiente y de la interacción entre el ambiente y el genotipo. Por ejemplo. Simón-Torres en 2011 determinó que la variedad de berenjena *Erica* es más resistente a los daños por frío que la variedad *Thelma*. De hecho, el estudio de esta variación varietal de la susceptibilidad al frío mediante estudios comparativos de la expresión génica en diferentes cultivares puede ayudar a determinar mecanismos de tolerancia al frío.

5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

El estudio de los daños por frío en berenjena y de los efectos del tratamiento con metil-jasmonato durante su frigoconservación ha permitido la recopilación de las siguientes conclusiones:

- La berenjena es sensible a los daños por frío y uno de los motivos es su origen tropical/subtropical.
- La berenjena es un producto hortofrutícola de gran importancia económica en la provincia almeriense, de modo que hay un gran interés en conocer cómo combatir y aliviar los síntomas ocasionado por los daños por frío.
- El tratamiento precosecha y poscosecha con MeJA aumenta de la tolerancia de la berenjena a la frigoconservación.
- El MeJA está directamente involucrado en la expresión de factores de transcripción y de genes de respuesta al frío.
- Diversos estudios e investigaciones han demostrado la eficacia del MeJA.
- El MeJA induce la expresión de proteínas de choque térmico o chaperonas que aumentan la tolerancia de los productos hortofrutícolas a los cambios bruscos de temperatura.
- El MeJA promueve la actividad antioxidante, reduciendo así el estrés oxidativo generado por el daño en las membranas debido a las bajas temperaturas por debajo de un mínimo crítico.

- La producción de variedades transgénicas mediante procedimientos biotecnológicos supone una herramienta con un gran potencial que en un futuro nos permitirá obtener berenjenas tolerantes a la frigoconservación y reducir las pérdidas poscosecha que genera este desorden fisiológico.

Es muy posible que las investigaciones futuras se centren en la producción de variedades de berenjena modificadas genéticamente debido a que es un campo muy inexplorado en este fruto y con un gran potencial debido a su eficacia, precisión y respeto por el medio ambiente. Además, el recurso genético de la tolerancia al estrés en el germoplasma de la berenjena es insuficiente para proporcionar este rasgo mediante reproducción convencional o *breeding*, por lo tanto, es necesario identificar fuentes de genes candidatos para mejorar el control de la tolerancia de la planta al estrés (Xiao y col., 2017). Con respecto a esto, Heyes (2018) determinó que la mejora de expresión de los genes *CBF* es quizás la más prometedora para la mejora de la tolerancia al frío de especies tropicales cultivadas a través de amplios cruces o tecnologías, sin embargo, también sería interesante considerar las siguientes opciones: 1) Contemplar si la transformación genética con genes biosintéticos de las poliaminas que codifican para la arginina descarboxilasa (ADC), la ornitina descarboxilasa (ODC), la S-adenosilmetionina descarboxilasa (SAMDC) y la Spd sintasa (SPDS) (Singh-Gill y Tuteja, 2010) podría contribuir a reducir los DF en berenjena; 2) Examinar de forma exhaustiva la ruta de biosíntesis y el mecanismo de acción de los JAs para determinar los genes clave en estos procesos que puedan ser potencialmente modificados; 3) Estudiar la expresión de los genes que codifican para las proteínas CTR1 y EBF1/2, dos reguladores negativos de la respuesta al etileno que se ven incrementados a nivel transcripcional en berenjena tolerantes a las bajas temperaturas tras un tratamiento 4 °C y un posterior reacondicionamiento a 28°C, y sus implicaciones en la tolerancia al frío en berenjena (Yang y col., 2020b); 4) Evaluar la posibilidad de modificar enzimas implicadas en el grado de saturación de los lípidos de las membranas, como la enzima glicerol-3-fosfato aciltransferasa (GPAT) o las enzimas desaturasas (FAD), que en organismos modelos como *Arabidopsis thaliana* (Sevillano y col., 2009) han resultado eficaces para combatir los daños por frío; 5) Comprobar si la sobreexpresión de los genes que codifican para enzimas antioxidantes podrían suponer un avance en este ámbito, de la misma forma que lo supuso para Guta y col. (1996) en su investigación con *Nicotiana tabacum*; 6) Determinar si la sobreexpresión de proteínas de choque térmico o chaperonas sería útil para aliviar los síntomas de los DF en berenjena.

BIBLIOGRAFÍA

- **Andújar Moreno, A.M.** Efectos de los tratamientos de metil jasmonato y melatonina sobre la calidad poscosecha de los frutos de calabacín (*Cucurbita pepo* L.). [Máster en Biotecnología Industrial y Agroalimentaria]. Trabajo de Fin de Máster de la Universidad de Almería, 2019
- **Anuario de Estadística Agraria** [Internet]. Superficie y producciones de cultivo. Hortalizas de fruto: Berenjena. Análisis provincial de superficie, rendimiento y producción, 2018 [aprox. 5 pantallas]. Disponible en: <https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/publicaciones/anuario-de-estadistica/default.aspx>
- **Artés, F. y Artés-Hernández, F.** Daños por frío en la postrecolección de frutas y hortalizas. Avances en Ciencias y Técnicas del Frío-1. Edit: UPCT y SECYTEF. Cartagena, Murcia, 2003. P. 299-310.
- **Artés, F.** Innovación en los tratamientos físicos modulados para preservar la calidad de los productos hortofrutícolas en postrecolección. III. Tratamientos gaseosos. Rev. Esp. Ciencia. Tecnol. Alim. 1995; 35: 247-269.
- **Bagnazari, M., Saidi, M., Mohammadi, M., Khademi, O. y Nagaraja, G.** Pre-harvest CaCl₂ and GA₃ treatments improve postharvest quality of green bell peppers (*Capsicum annum* L.) during storage period. Scientia Horticulturae. 2018; 240: 258–267.

- **Besada, C., Arnal, L. Y Salvador, A.** Improving storability of persimmon cv. Rojo Brillante by combined use of preharvest and postharvest treatments. *Postharvest Biology and Technology*. 2008; 50(2-3): 169–175.
- **Blanco-Díaz, M.T., Font, R., Martínez-Valdivieso, D. y Del Río-Celestino, M.** Diversity of natural pigments and phytochemical compounds from exocarp and mesocarp of 27 *Cucurbita pepo* accessions. *Sci. Hortic.* 2015; 197: 357–365.
- **Blankenship, S.M. y Dole, J. M.** 1-Methylcyclopropene: a review. *Postharvest Biology and Technology*. 2003; 28 (1): 1-25.
- **Cai, Y., Cao, S., Yang, Z. y Zheng, Y.** MeJA regulates enzymes involved in ascorbic acid and glutathione metabolism and improves chilling tolerance in loquat fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 2011; 59(3): 324-326.
- **Cantwell, M. y Suslow, T.V.** Eggplant: Recommendations for Maintaining Postharvest Quality. USA: Postharvest Technology Research and Information Center. University of California, Davis. 2005.
- **Cao, S., Zheng, Y., Wang, K., Rui, H. y Tang, S.** Effect of methyl jasmonate on cell wall modification of loquat fruit in relation to chilling injury after harvest. *Food Chemistry*. 2010; 118(3): 641-647.
- **Carrera, R., Zapata, S., García, A., Aguado, E., Rebolloso, M.M., Manzano, S., y col.** Effects of methyl jasmonate and salicylic acid treatments on post-harvest quality and cold damage of eggplant fruits. [Conference Title: IX Simpósio Ibérico de Maturação e Pós-Colheita, Lisboa, Portugal, 2 a 4 de novembro de 2016.]. p. 238-243.
- **Carrera Cabanzo, R.** Implicaciones del Metil-jasmonato (MJ) y el Ácido salicílico (SA) sobre la tolerancia a la frigoconservación en berenjena. [Máster en horticultura mediterránea bajo invernadero]. Trabajo de Fin de Máster de la Universidad de Almería, 2016.
- **Carvajal, F., Palma, F., Jamilena, M. y Garrido, D.** Cell wall metabolism and chilling injury during postharvest cold storage in zucchini fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 2015; 108: 68–77.
- **Carvajal Moreno, F.** Mejora de la vida comercial, calidad y conservación del fruto de calabacín (*Cucurbita pepo* L.): estudio comparativo de variedades comerciales. [Facultad de Ciencias, Departamento de Fisiología Vegetal]. Tesis doctoral de la Universidad de Granada, 2014.
- **Chaiprasart, P., Gemma, H., Iwahori, S. y Drew, R.** 2002. Reduction of chilling injury in stored banana fruits by jasmonic acid derivative and abscisic acid treatment. *Acta Hortic.* 2002; 575(81): 689-696.
- **Chen, Z.X., Silva, H. y Klessig, D.F.** Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired-resistance by salicylic-acid. *Science*. 1993; 262(5141): 1883-1886.
- **Concellón, A., Zaro, M.J., Chaves, A.R y Vicente, A.R.** Changes in quality and phenolic antioxidants in dark purple American eggplant (*Solanum melongena* L. cv. *Lucía*) as affected by storage at 0 °C and 10 °C. *Postharvest Biol. Technol.* 2012; 66: 35–41
- **Concellón, A., Añón, M.C. y Chaves, A.R.** Effect of low temperature storage on physical and physiological characteristics of eggplant fruit (*Solanum melongena* L.). *LWT-Food Sci.* 2007; 40(3): 389-396.
- **Concellón, A., Añón, M.C. y Chaves, A.R.** Characterization and changes in polyphenol oxidase from eggplant fruit (*Solanum melongena* L.) during storage at low temperature. *Food Chem.* 2004; 88(1): 17–24.
- **Constabel, C.P. y Ryan, C.A.** A survey of wound- and methyl jasmonate-induced leaf polyphenol oxidase in crop plants. *Phytochemistry*. 1998; 47: 507–11.
- **Constabel, C.P., Bergey, D.R. y Ryan, C.A.** Systemin activates synthesis of wound-inducible tomato leaf polyphenol oxidase via the octadecanoid defense signaling pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1995; 92(2): 407–11.

- **Couey, H.M.** Chilling injury of crops of tropical and subtropical origin. *Hort Science*. 1982; 17: 162-165.
- **D'Aquino, S., Palma, A., Tedde, M. y Fronteddu, F.** Effect of preharvest and postharvest calcium treatments on chilling injury and decay of cold stored "Fortune" mandarins. *Acta Hortic*. 2005; 682: 631-638.
- **Dhall, R.K., Sharma, S.R. y Mahajan, B.V.C.** Effect of shrink wrap packaging for maintaining quality of cucumber during storage. *J. Food Sci. Technol*. July–August 2012; 49(4): 495–499.
- **Ding, C.K., Wang, C., Gross, K.C. y Smith, D.L.** Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. *Plant*. 2002; 214(6): 895-901.
- **Ding, C.K., Wang, C.Y., Gross, K.C. y Smith, D.L.** Reduction of chilling injury and transcript accumulation of heat shock proteins in tomato fruit by methyl jasmonate and methyl salicylate. *Plant. Sci*. 2001; 161: 1153-1159.
- **Doares, S.H., Narváez Vásquez, J., Conconi, A. y Ryan, C.A.** Salicylic acid inhibits synthesis of proteinase inhibitors in tomato leaves induced by systemin and jasmonic acid. *Plant Physiol*. 1995; 108(4): 1741–1746.
- **Fahmy, K. y Nakano, K.** Optimal design of modified atmosphere packaging for alleviating chilling injury in cucumber fruit. *Environ. Control Biol*. 2014; 52(4): 233–240.
- **FAOSTAT:** Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [Internet]. Superficie cultivada con berenjena a nivel mundial y europeo [aprox. 5 pantallas]. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#home>
- **Farmer, E.E. y Ryan, C.A.** Interplant communication: Airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1990; 87(19): 7713–7716.
- **Faust, M. y Wang, S.** Polyamines in horticulturally important plants. *Horticultural Reviews*. 1992; 14: 333-356.
- **Ferguson, I.B., Snelgar, W., Bowen, J.H. y Woolf, A.B.** PREHARVEST FIELD HEAT AND POSTHARVEST FRUIT RESPONSE. *Acta Hortic*. 1999; 485: 149-154.
- **Galston, A.W. y Kaur-Sawhney, R.** Polyamines and senescence in plant. En Thompson, W. W., Nonangels, E. A y Huffaker, R. C., editores. *Plant Senescence: Its biochemistry and physiology*. Soc. Plant. Physiol.: Rockville, MD; 1987. p. 167-181.
- **Gao, H., Kang, L., Liu, Q., Cheng, N., Wang, B. y Cao, W.** Effect of 24-epibrassinolide treatment on the metabolism of eggplant fruits in relation to development of pulp browning under chilling stress. *J. Food Sci. Technol*. 2015; 52: 3394–3401.
- **García Galiano, J.M.** Efecto de diferentes tratamientos sobre la calidad en la vida poscosecha de frutos de calabacín (*Cucurbita pepo ssp. pepo* L.). [Escuela Politécnica Superior de Ingeniería y Facultad de Ciencias Experimentales]. Tesis doctoral de la Universidad de Almería, 2014.
- **Gupta, A.S., Webb, R.P., Holaday, A.S. y Allen, R.D.** Overexpression of superoxide dismutase protects plants from oxidative stress (induction of ascorbate peroxidase in superoxide dismutase overexpressing plants). *Plant Physiol*. 1993; 103(4): 1067–1073.
- **Heyes, J.A.** Chilling injury in tropical crops after harvest. *Annual Plant Reviews*. 2018; 1(1): 1–31.
- **Ho, T.T., Niranjana Murthy, H. y Park, S.Y.** Methyl Jasmonate Induced Oxidative Stress and Accumulation of Secondary Metabolites in Plant Cell and Organ Cultures. *Int. J. Mol. Sci*. 2020; 21(3): 716.
- **Izumi, H. y Watada, A.E.** Calcium treatment to maintain quality of zucchini squash slices. *J. Food Sci*. 1995; 60(4): 789–793.

- **Kader, A.A.** Madurez, maduración y relaciones de calidad de la fruta. [Taller de Maduración de la Fruta y Manejo del Etileno del Centro de Tecnología Poscosecha de UC Davis y la División de Agricultura y Recursos Naturales de La Universidad de California durante la primavera]. p. 2-6.
- **Kader, A.A., Zagory, D. y Kerbel, E.L.** Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 1989; 38(1): 1-30.
- **Kang, H., Park, K. y Salveit, M.E.** Elevated growing temperatures during the day improve the postharvest chilling tolerance of greenhouse-grown cucumber (*Cucumis sativus*) fruit. *Postharvest Biology and Technology.* 2002; 24(1): 49–57.
- **Kim, T.E., Kim, S.K., Han T.J., Lee, J.S. y Chang, S.C.** ABA and polyamines act independently in primary leaves of cold stressed tomato. *Physiol. Plant.* 2002; 115(3): 370-376.
- **Koushesh Saba, M. y Samira, M.** Sodium nitroprusside (SNP) spray to maintain fruit quality and alleviate postharvest chilling injury of peach fruit. *Scientia Horticulturae.* 2017; 216: 193–199.
- **Koushesh Saba, M. y Zarei, L.** Preharvest methyl jasmonate's impact on postharvest chilling sensitivity, antioxidant activity, and pomegranate fruit quality. *J. Food Biochem.* 2019; 42(3): e12763.
- **Kramer, G.F. y Wang, C.Y.** Correlation of reduced chilling injury with increased spermidine and spermine levels in zucchini squash. *Physiol. Plant.* 1989; 76(4): 479-484.
- **Kratsch, H.A. y Wise, R.R.** The ultrastructure of chilling stress. *Plant, Cell and Environment.* 2000; 23 (4): 337 – 350.
- **Lafuente, M.T., Martínez, M.A. y Zacarias, L.** ABA in the response of “Fortune” mandarin to chilling. Effects of maturity and high temperature conditioning. *J. Sci. Food. Agric.* 1997; 73(4): 494-502.
- **Laredo Alcalá, E.I., Martínez Hernández, J.L., Illiná, A., Guillén Cisneros, L. y Hernández Castillo, F.D.** Aplicación de ácido jasmónico como inductor de resistencia vegetal frente a patógenos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.* 2017; 8(3): 673-683.
- **Leon Reyes, A., Spoel, S.H., De Lange, E.S., Abe, H., Kobayashi, M., Tsuda, S., y col.** Ethylene modulates the role of nonexpressor of pathogenesis-related genes1 in cross talk between salicylate and jasmonate signaling. *Plant Physiol.* 2009; 149(4): 1797–1809.
- **Li, Q., Zheng, J., Li, S., Huang, G., Skilling, S.J., Wang, L., y col.** Transporter-mediated nuclear entry of jasmonoyl-Isoleucine is essential for jasmonate signaling. *Mol. Plant.* 2017; 10(5): 695–708.
- **Li, C., Liu, G., Xu, C., Lee, G.I., Bauer, P., Ling, H.Q., Ganai, M.W. y Howe, G.A.** The tomato suppressor of prosystemin-mediated responses2 gene encodes a fatty acid desaturase required for the biosynthesis of jasmonic acid and the production of a systemic wound signal for defense gene expression. *Plant Cell.* 2003; 15: 1646–1661.
- **Li, L. y Steffens, J.C.** Overexpression of polyphenol oxidase in transgenic tomato plants results in enhanced bacterial disease resistance. *Planta.* 2002; 215(2): 239–247.
- **Lurie, S.** Postharvest heat treatments. *Postharvest Biology and Technology.* 1998; 14(3): 257-269.
- **Lurie, S. and Klein, J.D.** Acquisition of low-temperature tolerance in tomatoes by exposure to high-temperature stress. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 1991; 116: 1007-1012.
- **Maestrelli, A., Lo Scalzo, R., Rotino, G.L., Acciarri, N., Spena, A., Vitelli, G.** Freezing effect on some quality parameters of transgenic parthenocarpic eggplants. *Journal of Food Engineering.* 2003; 56(2-3) 285–287.
- **Mahajan, S. y Tuteja, N.** Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 2005; 444: 139-158.
- **Manar, T., Banu, G., Fikret, Y., Şebnem, K., Özlem, U. y Şebnem, E.** The effects of JA treatment on the growth and some enzyme activities of eggplant embryos grown in vitro under salt stress conditions. *Res. J. Biotech.* 2013; 8(12): 101-106.

- **Mannino, M.R.** El cultivo moderno de la berenjena. Barcelona: Editorial De Vecchi, S.A.; 1987.
- **Marcellin, P.** Les maladies physiologiques du froid. In Côme, D., editors. Les végétaux et le froid. Côme, D., editor. Hermann: París; 1992. p. 53-105.
- **Markhart, A.H.** Chilling injury: a review of possible causes. Hort. Sci. 1986, 21: 1329-1333.
- **Martínez Esplá, A., Zapata, P.J., Castillo, S., Guillén, F., Martínez Romero, D., Valero, D. y Serrano, M.** Preharvest application of methyl jasmonate (MeJA) in two plum cultivars. 1. Improvement of fruit growth and quality attributes at harvest. Postharvest Biology and Technology. 2014; 98: 98–105
- **Martínez Tellez, M.A., Ramos Clamont, M.G., Gardea, A.A. y Vargas Arispuro, I.** Effect of infiltrated polyamines on polygalacturonase activity and chilling injury responses in zucchini squash (*Cucurbita pepo* L.). Biochemical and Biophysical Research Communications. 2002; 295(1): 98-101.
- **Massolo, J.F., Concellón, A., Chaves, A.R. y Vicente, A.R.** 1-Methylcyclopropene (1-MCP) delays senescence, maintains quality and reduces browning of nonclimacteric eggplant (*Solanum melongena* L.) fruit. Postharvest Biol. Technol. 2011; 59(1): 10–15.
- **McGlasson, W.B., Rath, A.C. y Legendre, L.** Preharvest application of aminoethoxyvinylglycine (AVG) modifies harvest maturity and cool storage life of ‘Arctic Snow’ nectarines. Postharvest Biology and Technology. 2005; 36(1): 93–102.
- **Megías, Z., Martínez, C., Manzano, S., García, A., Reboloso-Fuentes, M., Garrido, D., y col.** Individual Shrink Wrapping of Zucchini Fruit Improves Postharvest Chilling Tolerance Associated with a Reduction in Ethylene Production and Oxidative Stress Metabolites. PLoS One. 2015; 10(7): e0133058.
- **Mohammed, M. y Brecht, J.K.** Immature Fruit Vegetables. In: Bartz, J. A. y Brecht, J. K., editors. Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables. Second Edition. New York: Marcel Dekker, Inc.; 2003. Chapter 28. p. 671-690.
- **Montero-Calderón, M., y Cerdas-Araya, M.M.** Postharvest Physiology and Storage. In Siddiq, M., editor. Tropical and Subtropical Fruits: Postharvest Physiology, Processing and Packaging. Wiley-Blackwell: Oxford, UK; 2012. p. 17–33.
- **Nakamura, R., Inaba, A. e Ito, T.** Effect of cultivating conditions and postharvest stepwise cooling on the chilling sensitivity of eggplant and cucumber fruits. Sci. Rept. Okayama Univ. Jpn. 1985; 66: 19-29.
- **Newman, S.M., Tantasawat, P. y Steffens, J.C.** Tomato polyphenol oxidase B is spatially and temporally regulated during development and in response to ethylene. Molecules. 2011; 16(1): 493–517.
- **Palma, F., Carvajal, F., Jamilena, M. y Garrido, D.** Putrescine treatment increases the antioxidant response and carbohydrate content in zucchini fruit stored at low temperature. Postharvest Biol. Technol. 2016; 118: 68–70.
- **Palma, F., Carvajal, F., Ramos, J.M., Jamilena, M. y Garrido, D.** Effect of putrescine application on maintenance of zucchini fruit quality during cold storage: Contribution of GABA shunt and other related nitrogen metabolites. Postharvest Biol. Technol. 2015; 99: 131–140.
- **Pareek, S.** Ripening physiology: An overview. En Pareek, S., editor. Postharvest Ripening Physiology of Crops, 1st ed. CRC Press: Boca Raton, FL, USA; 2016. p. 1–48.
- **Pearce, G., Strydom, D., Johnson, S. y Ryan, C.A.** A polypeptide from tomato leaves induces wound-inducible proteinase inhibitor proteins. Science. 1991; 253(5022): 895–897.
- **Pérez López, A., Saucedo Veloz, C., Arévalo Galarza, M.L. y Muratalla Lúa, A.** Efecto del grado de madurez en la calidad y vida postcosecha de ciruela mexicana (*Spondias purpurea* L.). Rev. Fitotec. Mex. 2014; 27 (2): 133 – 139.

- **Poyesh, D.S., Terada, N., Sanada, A., Gemma, H. y Koshio, K.** Effect of 1-MCP on ethylene regulation and quality of tomato cv. Red Ore. *International Food Research Journal*. 2018; 25 (3): 1001-1006.
- **Quiroz González, B., Corrales García, J., Colinas León, M.T.B. e Ybarra Moncada, M.C.** Identification of variables correlated with chilling injury in Pitahaya (*Hylocereus undatus* Haworth). *Agrociencia*. 2017; 51 (2): 153-172.
- **Raman Prabhavathi, V. y Venkat Rajam, M.** Polyamine accumulation in transgenic eggplant enhances tolerance to multiple abiotic stresses and fungal resistance. *Plant Biotechnology*. 2007; 24(3): 273–282.
- **Prabhavathi, V., Yadav, J.S., Kumar, P.A. y Venkat Rajam, M.V.** Abiotic stress tolerance in transgenic eggplant (*Solanum melongena* L.) by introduction of bacterial mannitol phosphidehydrogenase gene. 2002; 9(2): 137–147.
- **Rodríguez Zapata, L.C., Espadas y Gil, F.L., Cruz Martínez, S., Talavera May, C.R., Contreras-Marin, F., Fuentes, G., y col.** Preharvest foliar applications of glycine-betaine protects banana fruits from chilling injury during the postharvest stage. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 2015; 2(8).
- **Romero Casado, M.C.** Tratamientos Poscosecha para el Control de los Daños por Frío en Frutos Climatéricos y No Climatéricos. [Facultad de Química, Departamento de Química Agrícola, Geología y Edafología]. Tesis doctoral de la Universidad de Murcia, 2016.
- **Ruan, J., Zhou, Y., Zhou, M., Khurshid, M., Weng, W., Cheng, J., y col.** Jasmonic Acid Signaling Pathway in Plants. *Int. J. Mol. Sci*. 2019; 20(10): 2479.
- **Ruiz, K.B., Trainotti, L., Bonghi, C., Ziosi, V., Costa, G. y Torrigiani, P.** Early methyl jasmonate application to peach delays fruit/seed development by altering the expression of multiple hormone-related genes. *J. Plant Growth Regul.* 2013; 32: 852–864.
- **Ryan, C.A. y Pearce, G.** Systemins: A functionally defined family of peptide signals that regulate defensive genes in *Solanaceae* species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003; 100(2): 14577–14580.
- **Salinas Andújar, J.A. y Palao Porcel, F.** Posibilidades de desarrollo de tráfico hortofrutícola por los puertos de Almería y Motril. Almería: Editorial Universidad de Almería; 2002.
- **Saltveit, M.E.** Temperatures Extremes. En Bartz, J. A. y Brecht, J. K., editores. *Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables*. Second Edition. New York: Marcel Dekker, Inc.; 2003. Chapter 19. p. 457-483.
- **Sánchez Bel, P., Egea, I., Martínez Madrid, C., Romojaro, F., Olmos, E., Flores, F. y col.** Understanding the mechanisms of chilling injury in bell pepper fruits using the proteomic approach. *Journal of Proteomics*. 2002; 75 (17): 5463-5478.
- **Sarafat-Ali, Md. y Kwang-Hyun, B.** Jasmonic Acid Signaling Pathway in Response to Abiotic Stresses in Plants B. *Int. J. Mol. Sci*. 2020; 21(2): 621.
- **Sayyari, M., Valero, D., Babalar, M., Kalantari, S., Zapata, P.J. y Serrano, M.** Prestorage oxalic acid treatment maintained visual quality, bioactive compounds, and antioxidant potential of pomegranate after long-term storage at 2 °C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010; 58(11): 6804-6808.
- **Scheer, J.M. y Ryan, C.A.** The systemin receptor SR160 from *Lycopersicon peruvianum* is a member of the LRR receptor kinase family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002; 99(14): 9585–9590.
- **Schirra, M., Cabras, P., Angioni, A., D'Hallewin, G. y Pala, M.** Residue uptake and storage responses of tarocco blood oranges after preharvest thiabendazole spray and postharvest heat treatment. *J. Agric. Food Chem*. 2002; 50(8): 2293–2296.

- **Schirra, M., Inglese, P. y La Mantia, T.** Quality of cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] fruit in relation to ripening time, CaCl₂ pre-harvest sprays and storage conditions. *Scientia Horticulturae*. 1999; 81(4): 425–436.
- **Serna Escolano, V., Valverde, J.M., García Pastor, M.E., Valero, D., Castillo, S., Guillén, F., y col.** Pre-harvest methyl jasmonate treatments increase antioxidant systems in lemon fruit without affecting yield or other fruit quality parameters. *J. Sci. Food Agric*. 2019; 99(11): 5035–5043.
- **Serrano, M., Martínez Romero, D., Guillén, F., Valverde, J.M., Zapata, P.J., Castillo, S., y col.** The addition of essential oils to MAP as a tool to maintain the overall quality of fruits. *Trends in Food Science and Technology*. 2008; 19 (9): 464-471.
- **Sevillano, L., Sánchez-Ballesta, M.T, Romojaro, F. y Flores, F.B.** Physiological, hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species. *Postharvest technologies applied to reduce its impact*. *J Sci Food Agric*. 2009; 89(4): 555–573.
- **Shetty, S.M., Chandrashekar, A. y Venkatesh, Y.P** Promoter analyses and transcriptional profiling of eggplant polyphenol oxidase 1 gene (SmePPO1) reveal differential response to exogenous methyl jasmonate and salicylic acid. 2012; 169(7): 718–730.
- **Shetty, S.M., Chandrashekar, A. y Venkatesh, Y.P.** Eggplant polyphenol oxidase multigene family: cloning, phylogeny, expression analyses and immunolocalization in response to wounding. *Phytochemistry*. 2011; 72(18): 2275–2287.
- **Shi, J., Zuo, J., Xu, D., Gao, L. y Wang, Q.** Effect of low-temperature conditioning combined with methyl jasmonate treatment on the chilling resistance of eggplant (*Solanum melongena* L.) fruit. 2019; 56(10): 4658-4666.
- **Siller Cepeda, J.H.** Eggplant. In Gross, K.C., Wang, C.Y. y Saltveit, M., editores. *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*. USDA Agricultural Research Service: Beltsville, MD, USA; 2016. p. 322-325.
- **Simón Torres, R.M.** Evaluación de fisiopatías en frutos mediante el uso del sistema de análisis de imágenes WinDIAS. [Escuela Politécnica Superior de Ingeniería]. Trabajo de Fin de Carrera de la Universidad de Almería, 2011.
- **Singh Gill, S. y Tuteja, N.** Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. *Plant Signaling & Behavior*. 2010; 5(1): 26-33.
- **Singh, B.N., Singh, B.R., Singh, R.L., Prakash, D., Singh, D.P., Sarma, B.K. y col.** Polyphenolics from various extracts/fractions of red onion (*Allium cepa*) peel with potent antioxidant and antimutagenic activities. *Food and Chemical Toxicology*. 2009; 47(6): 1161–1167.
- **Smith, A.W.J., Poulston, S., Rowsell, L., Terry, L.A. y Anderson, J.A.** A New Palladium-based ethylene scavenger to control ethylene-induced ripening of climacteric fruit. *Platin. Met. Rev*. 2009; 53(3): 112–122.
- **Spoel, S.H., Johnson, J.S. y Dong, X.** Regulation of tradeoffs between plant defenses against pathogens with different lifestyles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007; 104(47): 18842–18847.
- **Su, H., y Gubler, W.D.** Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on reducing postharvest decay in tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.). *Postharvest Biology and Technology*. 2002; 64(1), 133-137.
- **Supapvanich, S., Phonpakdee, R. y Wongsuwan, P.** Chilling injury alleviation and quality maintenance of lemon basil by preharvest salicylic acid treatment. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 2015; 27(11): 801-807.
- **Terry, L.A., Ilkenhans, T., Poulston, S., Rowsell, L. y Smith, A.W.J.** Development of new palladium-promoted ethylene scavenger. *Post. Biol. Technol*. 2007; 45(2): 214-220.
- **Thipyapong P., Hunt, M.D. y Steffens, J.C.** Antisense downregulation of polyphenol oxidase results in enhanced disease susceptibility. *Planta* 2004; 220: 105–117.

- **Toivonen, P.M.A.** Postharvest Physiology of Vegetables. En Hui, Y. H., Sinha, N., Ahmed, J., Evranuz, E. Ö. y Siddiq, M., editores. Handbook of Vegetables and Vegetables Processing. Ames, IA: Wiley-Blackwell Publishing; 2010. Chapter 9. p. 457-483.
- **Truman, W., Bennett, M.H., Kubigsteltig, I., Turnbull, C. y Grant, M.** Arabidopsis systemic immunity uses conserved defense signaling pathways and is mediated by jasmonates. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007; 104(3): 1075–1080.
- **Valenzuela, J.L., Manzano, S., Palma, F., Carvajal, F., Garrido, D. y Jamilena, M.** Oxidative Stress Associated with Chilling Injury in Immature Fruit: Postharvest Technological and Biotechnological Solutions. Int. J. Mol. Sci. 2017; 18 (7): 1-26.
- **Valero, D., Valverde, J.M., Martínez Romero, D., Guillén, F., Castillo, S. y Serrano, M.** The combination of modified atmosphere packaging with eugenol or thymol to maintain quality, safety and functional properties of table grapes. Postharvest Biology and Technology. 2006; 41(3): 317-327.
- **Valverde, D., Guillén, F., Martínez Romero, D., Castillo, S., Serrano, M. y Valero, D.** Improvement of Table Grapes Quality and Safety by the Combination of Modified Atmosphere Packaging (MAP) and Eugenol, Menthol, or Thymol. J. Agric. Food Chem. 2005; 53(19): 7458–7464.
- **Vinocur, B. y Altman, A.** Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievement and limitation. Current Opinion in Biotechnology. 2005; 16(2): 123-132.
- **Wan, F., Pan, Y., Li, J., Chen, X., Pan, Y., Wan, Y. y col.** Heterologous expression of *Arabidopsis C-repeat binding factor 3 (AtCBF3)* and *cold-regulated 15A (AtCOR15A)* enhanced chilling tolerance in transgenic eggplant (*Solanum melongena* L.). Plant Cell Rep. 2014. 33(12): 1951–1961.
- **Wang, C.Y.** MANAGING CHILLING INJURY IN VEGETABLES. Acta Hort. 2013; 1012; 1081-1085.
- **Wang, L., Chen, S., Kong, W., Li, S. y Archbold, D.D.** Salicylic acid pretreatment alleviates chilling injury and affects the antioxidant system and heat shock proteins of peaches during cold storage. Postharv. Biol. Technol. 2006; 41(3): 244-251.
- **Wang, C.Y. y Buta, J.G.** Methyl jasmonate reduces chilling injury in *Cucurbita pepo* through its regulation of abscisic acid and polyamine levels. Environ. Exp. Bot. 1994; 34(4): 427–432.
- **Woolf, A.B., Bowen, J.H. y Ferguson, I.B.** Preharvest exposure to the sun influences postharvest responses of “Hass” avocado fruit. Postharvest Biology and Technology. 1999; 15(2): 143–153.
- **Xiao, X.O., Zeng, Y.M., Cao, B.H, Lei, J.J., Chen, O.H., Meng, C.M. y col.** PSAG12^{-IPT} overexpression in eggplant delays leaf senescence and induces abiotic stress tolerance. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology. 2017; 92(4): 349-357.
- **Yamaguchi, Y., Huffaker, A., Bryan, A.C., Tax, F.E. y Ryan, C.A.** PEPR2 is a second receptor for the Pep1 and Pep2 peptides and contributes to defense responses in Arabidopsis. Plant Cell. 2010; 22: 508–522.
- **Yang, Y., Liu, J., Zhou, X., Liu, S. y Zhuang, Y.** Identification of WRKY gene family and characterization of cold stress-responsive WRKY genes in eggplant. PeerJ. 2020a.
- **Yang, Y., Liu, J., Zhou, X., Liu, S. y Zhuang, Y.** Transcriptomics analysis unravels the response to low temperature in sensitive and tolerant eggplants. Scientia Horticulturae. 2020b. 271: 109468.
- **Yang, Q., Zhang, Z., Rao, J., Wang, Y., Sun, Z., Ma, Q., y col.** Low temperature conditioning induces chilling tolerance in “Hayward” kiwifruit by enhancing antioxidant enzymes activity and regulating endogenous hormones levels. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2013, 93: 3691-3699.
- **Yi Wang, C.** Combined treatment of heat shock and low temperature conditioning reduces chilling injury in zucchini squash. Postharvest Biol. Technol. 1994; 4(1-2): 65–73.
- **Zapata, P.J., Martínez Esplá, A., Guillén, F., Díaz Mula, H.M., Martínez Romero, D., Serrano, M. y Valero, D.** Preharvest application of methyl jasmonate (MeJA) in two plum cultivars. 2.

Improvement of fruit quality and antioxidant systems during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*. 2014; 98: 115–122.

- **Zaro, M.J., Chaves, A.R., Vicente, A.R. y Concellón, A.** Distribution, stability and fate of phenolic compounds in white and purple eggplants (*Solanum melongena* L.). *Postharvest Biology and Technology*. 2014; 92: 70-78.
- **Zhang, Y., Chu, G., Hu, Z., Gao, Q., Cui, B., Tian, S. y col.** Genetically engineered anthocyanin pathway for high health-promoting pigment production in eggplant. *Mol. Breed.* 2016; 36: 54.
- **Zhang, W., Jiang, B., Li, W., Song, H., Yu, Y. y Chen, J.** Polyamines enhance chilling tolerance of cucumber (*Cucumis sativus* L.) through modulating antioxidative system. *Sci. Hortic.* 2009; 122(2): 200–208.
- **Zhou, L., He, Y.J., Li, J., Li, L.Z., Liu, Y. y Chen, H.Y.** An eggplant *SmICE1a* gene encoding MYC-type ICE1-like transcription factor enhances freezing tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biology*. 2020; 22(3): 450–458.