



Universidad Nacional de La Plata

Facultad de Ciencias Exactas

**Trabajo final de la carrera de Licenciatura en Ciencia y
Tecnología de Alimentos**

**TÍTULO: "INFLUENCIA DEL ESTADIO DE DESARROLLO SOBRE LA
CALIDAD, SENESCENCIA Y DAÑO POR FRÍO DE ZAPALLITO REDONDO EN
POSCOSECHA"**

ALUMNO: JUAN MANUEL ZARAUZA

DIRECTOR: DR. JOAQUÍN HÉCTOR HASPERUÉ

CO-DIRECTOR: DR. JUAN FACUNDO MASSOLO

AÑO 2018

Este Trabajo Final de Grado para obtener el título de “Licenciado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos” de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata, fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), bajo la dirección del Dr. Joaquín Hasperué y Co-dirección del Dr. Facundo Massolo.

AGRADECIMIENTOS

Dedico este trabajo a mis padres Manuel y María de los Milagros por su comprensión, afecto y ejemplo para todas las cuestiones de la vida. A mis hermanas Delfina y Graciana por su cariño y soporte permanente. A mis abuelos quienes se preocuparon por mí en los momentos duros. A mis tíos y primos Mercedes, Cachi, Mariano, Javier y Ignacio por su fraternidad.

En definitiva, esta labor es para toda mi familia y amigos, este triunfo además de ser mío es suyo porque fueron parte de él. ¡Muchas gracias a todos!

- ***A la Universidad Nacional de La Plata y a todos los docentes de la Facultad de Ciencias Exactas por la formación que me han brindado.***
- ***Al Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), en particular al laboratorio de vegetales por haberme brindado el espacio y la logística para realizar mi trabajo.***
- ***A mi director Dr. Joaquin Hasperué y co-director Dr. Facundo Massolo por la ayuda y servicio de material de consulta permanente.***
- ***A Maria Jose Zaro, Lucia Valerga y Magali Darré por brindarme la posibilidad de un mejor manejo en el laboratorio.***
- ***A mis compañeros y amigos de exactas: Andrea, Antonienta, Eliana, Flavia, Florencia, Lucho, Lucila, Meli, Papo y Yuliana por brindarme su apoyo, ayuda y amistad durante la carrera.***
- ***A mis amigos de Las Flores y de la vida: Agustín, Checho, Yamila, Diana, Facu, Fede, Joaco, Kevin, Enzo, Negra, Nico, Pingüi, Manu y Vale por su contención en momentos difíciles, por su alegría y su hermandad.***

INDICE GENERAL

1. RESUMEN	7
2. INTRODUCCIÓN	7
2.1. Importancia económica.....	7
2.2. Desarrollo.....	9
2.3. Seguridad microbiana.....	10
2.4. Procesamiento, envasado y calidad.....	10
2.5. Daño por frío.....	11
2.5.1. Descripción.....	11
2.5.2. Síntomas de daño por frío.....	14
2.5.3. Determinación de daño por frío.....	15
2.5.4. Respuestas físicas y bioquímicas.....	15
2.5.5. Estimulación de la producción de etileno a temperatura de daño por frío.....	16
2.5.6. Tasa respiratoria.....	17
2.5.7. Carbohidratos.....	17
2.6. Regulación y manipulación del daño por frío.....	17
2.6.1. Manejo de la temperatura.....	17
2.6.2. Control de la atmósfera de almacenamiento.....	18
2.6.3. Tratamientos químicos.....	18
2.6.4. Aplicación de hormonas.....	18
2.6.5. Modificación genética.....	19
2.7. Senescencia.....	19
2.7.1. Características principales de la senescencia.....	20
2.7.2. Regulación hormonal de la senescencia.....	21
2.8. Métodos de conservación y tratamientos poscosecha.....	22
2.9. Factores pre-cosecha involucrados en la calidad poscosecha.....	23
3. OBJETIVOS	24
3.1. Objetivos generales.....	24
3.2. Objetivos específicos.....	24
3.3. Hipótesis.....	24

4. MATERIALES Y METODOS	24
4.1. Material vegetal.....	24
4.2. Determinaciones analíticas.....	25
4.3. Análisis estadístico.....	26
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
5.1. Influencia del estadio de desarrollo sobre la calidad y susceptibilidad al daño por frío de zapallito redondo almacenado a 0 °C.....	27
5.1.1. Apariencia e Índice de daño por frío.....	27
5.1.2. Color superficial y pigmentos.....	28
5.1.3. Capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos.....	30
5.1.4. Deformación a la ruptura (DR).....	31
5.1.5. Pérdida de peso y tasa respiratoria (TR)	32
5.1.6. Acidez.....	33
5.1.7. Sólidos solubles y azúcares totales.....	34
5.2. Efecto del estadio de desarrollo sobre la senescencia y el comportamiento poscosecha de zapallito almacenado a 5 °C.....	36
5.2.1. Índice de deterioro (ID).....	36
5.2.2. Color superficial y pigmentos.....	36
5.2.3. Capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos.....	39
5.2.4. Deformación a la ruptura (DR).....	40
5.2.5. Pérdida de peso y tasa respiratoria (TR).....	42
5.2.6. Acidez.....	43
5.2.7. Sólidos solubles y azúcares totales.....	44
CONCLUSIONES	46
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	47

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diámetro, densidad y materia seca de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III.....	10
Tabla 2. Composición química media de zapallito y pepino.....	10

Tabla 3. Contenido de sólidos solubles y de azúcares totales de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III almacenados a 0 °C35

Tabla 4. Contenido de sólidos solubles y de azúcares totales de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III almacenados a 5 °C45

INDICE DE FIGURAS

Figura A. Tamaño y aspecto al momento de la cosecha de zapallito redondo en diferentes estadios de desarrollo.....9

Figura B. Eventos que podrían desencadenar el daño por frío en tejidos vegetales sensibles..... 12

Figura C. Re-arreglo molecular de lípidos de membrana ante el daño por frío.....13

Figura D. Ruta biosintética del etileno16

Figura 1. A) Apariencia de zapallitos en los tres estadios de desarrollo almacenados a 0°C durante 19 d. B) Índice de deterioro de frutos almacenados a 0 °C..... 27

Figura 2. Luminosidad y tono de zapallitos de los tres estadios almacenados a 0 °C 28

Figura 3. Contenido de carotenoides y de clorofilas de zapallitos en los tres estadios de desarrollo almacenados a 0 °C..... 30

Figura 4. Capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos de zapallitos en los tres estadios de desarrollo almacenados a 0 °C..... 31

Figura 5. Distancia de ruptura de zapallitos en los tres estadios de desarrollo almacenados a 0 °C.....32

Figura 6. Pérdida de peso y tasa respiratoria de zapallitos en los tres estadios de desarrollo almacenados a 0 °C.....33

Figura 7. Acidez de zapallitos en los tres estadios de desarrollo almacenados a 0 °C34

Figura 8. A) Apariencia de zapallitos en los tres estadios de desarrollo almacenados a 5°C durante 19 d. B) Índice de deterioro de frutos almacenados a 5 °C.....36

Figura 9. Luminosidad y tono de zapallitos en los tres estadios de desarrollo almacenados a 5 °C.....38

Figura 10. Contenido de carotenoides y de clorofilas de zapallitos en los tres estadios de desarrollo almacenados a 5 °C.....39

Figura 11. Capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos de zapallitos en los tres estadios de desarrollo almacenados a 5 °C.....40

Figura 12. Distancia de ruptura de zapallitos en los tres estadios de desarrollo almacenados a 5 °C.....	42
Figura 13. Pérdida de peso y tasa respiratoria de zapallitos en los tres estadios de desarrollo almacenados a 5 °C.....	43
Figura 14. Acidez de zapallitos en los tres estadios de desarrollo almacenados a 5 °C	44

1. RESUMEN

El estadio de desarrollo de los productos frutihortícolas al momento de la cosecha puede afectar marcadamente su calidad y su comportamiento durante el almacenamiento. El zapallito redondo (*Cucurbita maxima* var zapallito) es una hortaliza de fruto ampliamente producida en América del Sur. A pesar de su popularidad, la información concerniente a su calidad en diferentes estados de desarrollo durante el almacenamiento es escasa. En el presente estudio se compararon 3 estadios de desarrollo de fruto diferentes: baby (I), intermedio (II) y tradicional o comercial (III) (diámetros 2,5-3,5, 6,5-7,5 y 8,5-9,5 cm respectivamente). El estudio de la calidad sensorial y/o nutricional del producto en estados de desarrollo alternativos al comercial podría ofrecer variantes de mercadeo rentable con respecto a lo conocido. En este trabajo, se analizó la calidad y vida poscosecha de zapallito redondo en los 3 estadios de desarrollo previamente mencionados, luego de almacenar a 0 °C (temperatura de almacenamiento inferior a la óptima, predisponente al daño por frío) o 5 °C (temperatura óptima de almacenamiento). Para el análisis de calidad, se definió un índice de deterioro (en presencia o ausencia de daño por frío), se midió el color superficial, y el contenido de carotenoides, clorofilas, antioxidantes y compuestos fenólicos, se determinó firmeza, pérdida de peso, tasa respiratoria y acidez, así como el contenido de sólidos solubles y azúcares.

Los zapallitos “baby”, de color más claro, fueron más ricos en contenido de antioxidantes y de compuestos carotenoides. Sin embargo, estos frutos presentaron una mayor actividad metabólica y fueron más susceptibles al amarilleamiento, ablandamiento, deshidratación, daño por frío (DF) y la pudrición que los frutos de los estadios II y III. A 5 °C, la calidad de los frutos del estadio I fue aceptable hasta los 12 días más 2 días a 20 °C, mientras que los estadios II y III, en iguales condiciones de almacenamiento mantuvieron su calidad aceptable durante una semana más.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Importancia económica

Los zapallitos son hortalizas de fruto que pertenecen a la amplia familia de las Cucurbitáceas. Estos tienen la particularidad de que son separados de la planta antes de que se complete su desarrollo (**Albertini y col., 2006, Kamol y col., 2014, Rahman y col., 2016**). Debido a que existen distintas especies de zapallitos, se hace necesario distinguir las variedades, entre las que se pueden mencionar el zapallito ‘criollo’, ‘redondo’, ‘de tronco’ o ‘redondo de tronco’ (*Cucurbita maxima* var. Zapallito (Carr.) Millán, o simplemente *Cucurbita maxima* var. Zapallito), el zapallito zucchini,

conocido también como 'zapallo/zapallito italiano' (*Cucurbita Pepo*) (Millán, 1945; 1947), y el zapallo anco (*Cucurbita moschata*) entre otras. Es importante mencionar que si bien a la variedad Zapallito se lo suele identificar frecuentemente como "de tronco", existen otras variedades de zapallito de tronco.

Teniendo en cuenta los datos del INDEC (2002) y de la FAO (Faostat, 2014), Argentina produce anualmente unos 0,78 millones de toneladas de zapallos y zapallitos (3,5% a nivel mundial). En nuestro país, los principales productores de zapallitos se encuentran en las regiones noreste y noroeste (De Grazia y col., 2003), y proveen al Mercado Central de Buenos Aires entre abril y septiembre mientras que la oferta bonaerense se da entre octubre y marzo (Massolo, 2015). Por otro lado, según el último censo agropecuario de nuestro país (INDEC, 2014) se destina aproximadamente la misma superficie tanto para la producción de zapallito de tronco como para la de zapallito redondo (unas 450 has), siendo el cultivo mayormente a campo. Para los canales de distribución tradicionales, la cosecha se realiza por tamaño y en estadio inmaduro, siendo para el fruto comercial tradicional entre 8 y 11 cm de diámetro ecuatorial.

El estadio de desarrollo vegetal comprende una serie de cambios fisicoquímicos cuyo conocimiento es sumamente relevante (Kilcher, 1981) ya que determina la calidad y en muchos casos afecta la respuesta de frutos durante el almacenamiento luego de la cosecha.

La refrigeración es un factor de gran importancia para extender el almacenamiento de frutos de zapallito redondo, ya sea para el estadio comercial como para otros alternativos, aunque éstos pueden sufrir daño por frío si son almacenados por debajo de 5 °C (Molinar y col., 1999). Para la variedad "Zapallito" (redondo), las condiciones óptimas de almacenamiento son 5 °C y 90% HR, aunque aun así la vida útil es acotada (2-3 semanas) (Massolo y col., 2015).

Algunos autores han demostrado que ciertos frutos en estadios de menor desarrollo son más sensibles al frío que en etapas más avanzadas del mismo (Mohammed y Bretch, 2002; Boonsiri y col., 2007). Si bien en otros frutos como citrus o berenjena el comportamiento poscosecha según el estadio de desarrollo ha sido estudiado con más detenimiento (Bermejo y Cano 2012, Zaro y col. 2014), en zapallito redondo no ha sido descrito hasta la fecha. En otros frutos no climatéricos, como por ejemplo el pimiento, el estadio de desarrollo a la cosecha puede ser determinante en los niveles de compuestos bioactivos (Deepa y col., 2007). Por último, es importante mencionar que existe un período ontogénico o "ventana de cosecha" bastante amplia en la cual los zapallitos redondos podrían comercializarse.

2.2. Desarrollo

Los vegetales “mini” o más comúnmente denominados “baby” son hortalizas cosechadas con un desarrollo temprano y, en consecuencia, de un tamaño pequeño. Estos pueden ubicarse en el sector de los productos “gourmet”, los cuales han comenzado a difundirse crecientemente tanto en el sector gastronómico como en el público en general. Se trata de productos atractivos para muchos consumidores puesto que poseen un sabor delicado y agradable ternura. Asimismo, pueden ser incorporados en forma directa en ensaladas (**Shaw y Cantliffe, 2005; Bachmann, 2002**). En la actualidad se comercializan numerosas hortalizas “baby” como pimiento, berenjena, tomate, espinaca, alcaucil, palta, remolacha, zanahoria, coliflor, apio, maíz, chaucha, cebolla, lechuga, zucchini (**Aggie Horticulture, 2017**), entre otros (**Melissa's, 2017**). Los vegetales baby tienen algunas ventajas en relación a los estadios más avanzados de desarrollo. Estos beneficios se atribuyen a la mínima oxidación del producto por el menor procesamiento al que son sometidos a la hora de la preparación de “vegetales listos para comer”. Durante la cosecha, el fruto baby sufre un daño menor. Para los primeros días de almacenamiento los vegetales baby mantienen una buena calidad visual al igual que los estadios más desarrollados, pero al progresar en el almacenamiento la calidad de los frutos de menor tamaño disminuye debido al amarilleamiento y descomposición del tejido blando.

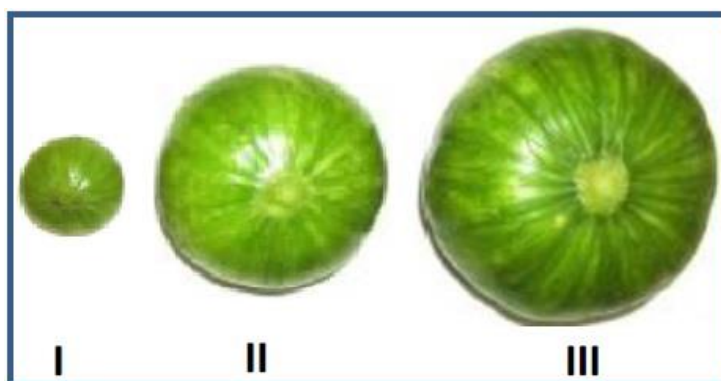


Figura A. *Tamaño relativo y aspecto al momento de la cosecha de zapallito redondo en diferentes estadios de desarrollo: I (3 cm), II (7 cm) y III (9 cm).*

A continuación, se presentan parámetros básicos de calidad de los frutos utilizados en el presente trabajo, en los 3 estadios de desarrollo seleccionados (Tabla 1) y la composición porcentual promedio de frutos de zapallito (Tabla 2).

Tabla 1. Diámetro, densidad y materia seca de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III (Massolo, 2015).

	Estadio de desarrollo		
	I	II	III
Diámetro (cm)	3,0±0,5	7,0±0,5	9,0±0,5
Densidad (g mL ⁻¹)	0,80±0,05	0,90±0,05	0,85±0,05
Materia seca (%)	8,50±0,50	4,75±0,50	4,25±0,50

Tabla 2. Composición química media de zapallito y pepino (USDA Nutrition Database).

Componentes	Cantidad	
	Zapallito	Pepino
Agua	94,6%	95,3%
Proteína	1,2%	0,7%
Ceniza	0,6%	0,4%
Fibra	1,1%	0,5%
Azúcares	2,2%	1,7%
totales Lípidos	0,18%	0,11%
Energía	16 Kcal 100 g ⁻¹	15 Kcal 100 g ⁻¹
Vitamina C	17 mg 100 g ⁻¹	2,8 mg 100 g ⁻¹
Potasio	262 mg 100 g ⁻¹	147 mg 100 g ⁻¹
Calcio	15 mg 100 g ⁻¹	16 mg 100 g ⁻¹
Sodio	2 mg 100 g ⁻¹	2 mg 100 g ⁻¹

2.3. Seguridad microbiana

Para aumentar la vida poscosecha, una amplia variedad de desinfectantes, como el cloro, el peróxido de hidrógeno, los ácidos orgánicos y el ozono se utilizan para reducir las poblaciones bacterianas, siendo el cloro el desinfectante más utilizado en la industria. Pero a pesar de las funciones beneficiosas, el uso de desinfectantes conlleva a una menor aceptabilidad de los consumidores por su impacto ambiental y sobre la salud.

Por lo tanto, se puede recurrir a otros métodos alternativos, esto es, a los tratamientos químicos tradicionales como son: el lavado con agua ozonizada y electrolizada, el tratamiento térmico, la aplicación de agentes antimicrobianos naturales, el envasado con atmósfera modificada y el uso de microorganismos

antagonistas no patógenos. De esta manera se controla y minimiza el crecimiento de patógenos en frutas frescas y hortalizas.

2.4. Procesamiento, envasado y calidad

La producción, cosecha, procesamiento, envasado, transporte y almacenamiento de hortalizas conllevan diversos riesgos mecánicos, químicos, fisiológicos, así como crecimiento de patógenos microbianos. Estos peligros están relacionados entre sí, por ejemplo, el daño mecánico de las hojas durante la cosecha y el procesamiento conduce a un aumento de la pérdida de electrolitos y a una mayor tasa respiratoria, lo que crea un ambiente favorable para el crecimiento microbiano y por ende, al deterioro del producto.

También los productos químicos (como pesticidas y desinfectantes) son peligros importantes asociados a la producción de frutas y hortalizas, incluyendo los vegetales baby, debiéndose controlar y vigilar con medidas apropiadas de inocuidad y control de calidad durante cada una de las etapas mencionadas.

El agua es el factor principal que incide en el metabolismo de las plantas, las cuales han desarrollado mecanismos para hacer frente a cambios importantes en sus niveles. La relación entre el contenido de agua conjuntamente con la presión y potencial osmóticos se utilizan como criterios para evaluar los aspectos fisiológicos. . Estos factores también se emplean ante situaciones de estrés como ajuste osmótico, ajuste elástico y aclimatación al frío. De tal manera, estas relaciones deben ser consideradas al momento de la cosecha y la manipulación durante el embalaje ya que intervienen en un futuro almacenamiento (**Galindo y col., 2004**).

2.5. Daño por frío

2.5.1. Descripción

El almacenamiento a baja temperatura se considera el método más eficaz para preservar la calidad de los productos hortícolas más perecederos ya que disminuye la tasa respiratoria, retarda la maduración y otros cambios metabólicos indeseables (**Wang, 1989**).

A pesar de estos efectos beneficiosos, a bajas temperaturas por encima del punto de congelación, numerosos productos fruti-hortícolas pueden sufrir un desorden fisiológico que se denomina 'daño por frío'. Esto se manifiesta como alteraciones fisiológicas que conllevan a una variedad de síntomas que en su mayoría suceden en

la superficie del fruto. Algunos autores han atribuido esto a la pérdida de fluidez de las membranas (**Jackman y col., 1988; Parkin y col., 1989**).

Son varios los factores que influyen sobre la intensidad del daño por frío, entre ellos el tipo de tejido, la temperatura, humedad relativa, intensidad de luz, composición atmosférica, variabilidad genética y el estadio de desarrollo del vegetal en el momento de ocurrencia de bajas temperaturas (**Wang, 1989**).

En la Figura B se presenta un mecanismo de eventos posible, a nivel tisular, desencadenados por el daño por frío.

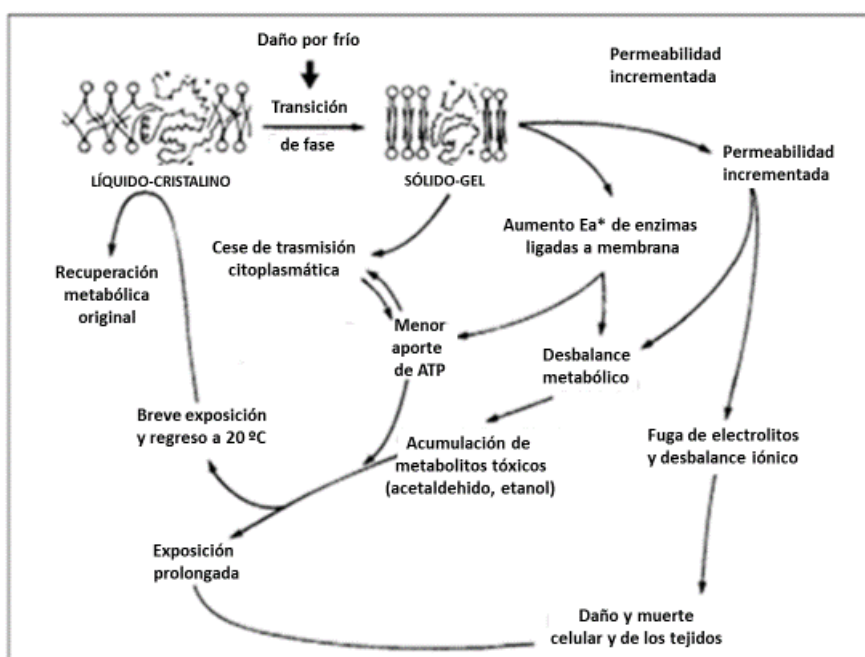


Figura B. Esquema de los eventos que podrían desencadenar el daño por frío en tejidos vegetales sensibles. Adaptado de **Lyons (1973)**.

A su vez se puede considerar una transición de los lípidos de membrana a dominios discretos o una transición de fase (separación) por debajo de una temperatura crítica. Un examen más detallado de las membranas biológicas ha determinado que existen dominios heterogéneos de lípidos en las mismas (**Parkin y col., 1989**).

El modelo de **Quinn (1985)** puede esquematizar el daño a baja temperatura de membranas biológicas que se basa en dominios de lípidos sometidos a continuas transiciones a temperatura crítica, desde una fase de cristal líquido a la fase gel. (Fig. C)

Algunos lípidos de membrana ante el daño por frío pueden adquirir una disposición hexagonal en donde estas estructuras tienden a separarse por fases en las

membranas causando perturbaciones estructurales que dan lugar a pérdida de permeabilidad y agregación de proteínas de membrana (**Parkin y col. 1989**).

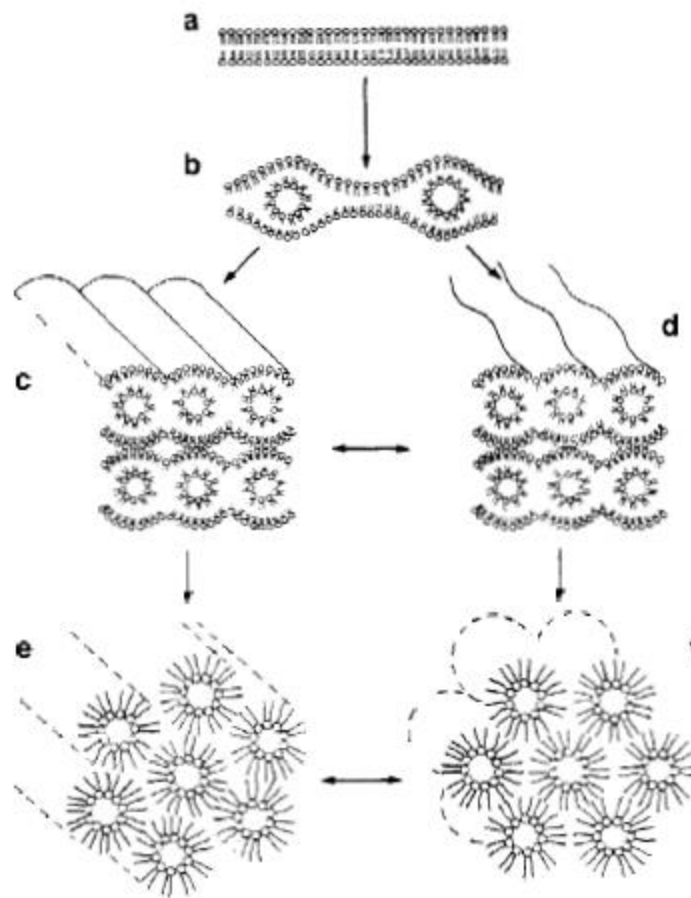


Figura C. Reordenamiento molecular de lípidos de membrana en estructuras hexagonales ante el daño por frío: (a) estructura lamelar (b) inversión de micelas (c) micelas tubulares invertidas (d) matrices de micelas invertidas en paquetes cerrados dentro de la bicapa (e) estructura hexagonal-II (f) estructura fase cubica (**Quinn, 1985**).

Por otra parte, **Minorsky (1985)** presentó otra hipótesis que incluía la redistribución celular del calcio como traductor primario del daño por frío. La importancia de esta hipótesis puede descansar en la relación que tienen las proteínas de fijación de calcio y el calcio como mensajeros secundarios para las actividades celulares y su control (**Carafoli y Penniston, 1985**). Se observó que una respuesta rápida de plantas sensibles al frío a temperaturas reducidas produce un cese de la transmisión protoplasmática y la hipótesis más válida puede ser es una redistribución del calcio intracelular (**Parkin y col., 1989**).

El calcio también tiene un efecto sobre la generación de energía celular (**Minorsky, 1985**) ya que la pérdida de gradientes de calcio o compartimentación puede conducir a un deterioro del control de la producción de ATP. La redistribución

celular de calcio podría surgir de la disfunción de la actividad de bombeo (ATPasa) o pérdida de la permeabilidad de la membrana, debida a la separación de fases en la bicapa lipídica.

2.5.2. Síntomas de daño por frío

Algunos de los síntomas que ocurren durante el proceso de daño por frío son el picado superficial (pitting), decoloración, maduración despereja, inhibición del crecimiento, marchitamiento, pérdida de sabor, ablandamiento y pudrición (**Wang, 1989**). Resulta de interés nombrar algunos ejemplos de manifestación de este desorden fisiológico: en berenjenas, pimientos, pepinos y zapallos son características las áreas hundidas o picaduras superficiales; la decoloración interna es característica en filamentos vasculares de la palta y en semillas de berenjena. En frutos inmaduros, como pepino, se observa picado superficial, manchas translúcidas en la piel y decaimiento general. A su vez, en berenjenas se manifiestan escaldaduras superficiales y mayor susceptibilidad al ataque por alternaria y en pimiento verde sucede principalmente una decoloración interna (**Abe, 1990**). A su vez también se producen a nivel de ultraestructura degradación de fosfolípidos, aumento en fugas de iones, cambio a nivel de membranas (dilatación de las mitocondrias, degradación de cloroplastos) (**Abe, 1990**).

Desafortunadamente, para los vegetales sensibles al frío, el almacenamiento a baja temperatura es a menudo más perjudicial que beneficioso. El desarrollo de daño por frío da lugar a una pérdida de calidad, desensamble de los tejidos que los hace muy susceptibles al ataque de patógenos durante la poscosecha. Los síntomas primarios que un producto vegetal suele experimentar ante el inicio del daño por frío suelen implicar cambios en la estructura lipídica de las membranas celulares, modificaciones conformacionales de proteínas estructurales o de ciertas enzimas reguladoras del metabolismo vegetal, alteraciones en la estructura del citoesqueleto o un aumento en la concentración de calcio citosólico libre (**Wang, 1989**). Estos eventos ocurren ni bien comienza la manifestación del desorden fisiológico, siendo las afecciones fácilmente reversibles cuando la exposición a las bajas temperaturas es de corta duración y a una temperatura crítica. Por otro lado, existen respuestas secundarias como la pérdida de solutos (**Marangoni y col., 1996**), descompartimentación, disminución de la actividad oxidativa mitocondrial, aumento de la energía de activación de las enzimas asociadas a la membrana, cese de la transmisión protoplasmática, estimulación de la producción de etileno (**Wang y Adams, 1982**), reducción del suministro y de la utilización de energía, disminución de la tasa fotosintética, disfunción y desequilibrio del metabolismo, y acumulación de

sustancias tóxicas y manifestación de una variedad de síntomas de lesiones debidas a las bajas temperaturas (**Lyons 1973**).

2.5.3. Determinación de daño por frío

Se ha sugerido el uso de determinaciones a nivel fisiológico como índices de la incidencia del daño por frío. Estas medidas incluyen la pérdida de electrolitos, mediante el grado de insaturación de los lípidos membrana (relacionado con la fluidez de la membrana plasmática) y la fotosíntesis. Sin embargo, la mayoría de estos métodos de detección son insensibles a los primeros efectos del daño por frío o consumen tiempo, son destructivos y/o de difícil aplicación.

Abbott y col. (1985) sugirieron que la reducción de la emisión de luz retardada por el efecto de las temperaturas bajas podría deberse a una disminución de la actividad del cloroplasto en lugar de una simple pérdida de clorofila. Este método constituye un índice no destructivo y rápido del daño por frío (**Abbott y Massie, 1991**).

Otro método que puede usarse como indicador del daño por frío es la medición de la producción de etileno o de los niveles del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), un precursor del mismo.

2.5.4. Respuestas físicas y bioquímicas

Raison y col. (1971) demostraron que el cambio de fase en los lípidos de la membrana en las mitocondrias ocurría a temperaturas que coincidían con cambios en la función de la membrana. Se pensó que esta transición de fase lipídica de membrana de una estructura flexible cristalina a una estructura de gel sólido conducía a desequilibrios metabólicos, pérdida de compartimentación celular, incremento en la permeabilidad de la membrana, fugas de iones, estimulación de la producción de etileno, incremento del ritmo respiratorio y, en consecuencia, el desarrollo de una variedad de síntomas de daño por frío.

Durante mucho tiempo se ha establecido que las plantas que crecen a bajas temperaturas tienden a contrarrestar el daño por frío sintetizando cantidades elevadas de ácidos grasos insaturados.

Algunos autores suponen que el aumento de la sensibilidad al daño por bajas temperaturas está correlacionado con cantidades crecientes de fosfatidilglicerol 16:0/16:0 y 16:0/16:1 en el tejido fotosintético (**Norman y col., 1984**). El fosfatidilglicerol es un lípido que se encuentra en vegetales, que posee un grado suficientemente bajo de insaturación, por lo que confiere a los tejidos mayor susceptibilidad al cambio de fase a temperaturas entre 0 °C y 30 °C (**Wilson, 1985**).

De esta forma, el daño por frío puede afectar la permeabilidad de la membrana celular y el grado de incidencia viene dado por la cantidad y/o velocidad de transferencia de solutos (iones, aminoácidos, azúcares y pigmentos) a través de la misma (Murata, 1989). Un cambio en la permeabilidad de la membrana implica una variación de sus propiedades de regulación entre el citoplasma y el exterior de la célula.

El aumento en la permeabilidad y la fuga de solutos puede ocurrir ya sea en una fase temprana o tardía del proceso de frío. Paull (1981) informó que la fuga de iones en algunas especies sensibles al frío puede aumentar dentro de 1 h de exposición a bajas temperaturas. En ñame (*Dioscorea sp.*), también se observó un aumento sustancial de la pérdida de electrolitos después de la exposición a bajas temperaturas (Olorunda y MacKlon, 1976) y resultados similares se encontraron en frutos de berenjena (Abe y Ogata, 1978; Concellón y col., 2007).

2.5.5. Estimulación de la producción de etileno a temperatura de daño por frío

La mayoría de las plantas sensibles al frío no producen normalmente una cantidad significativa de etileno excepto durante la maduración de frutos. Por su parte, esta producción de etileno se encuentra muy estimulada después de la exposición a procesos de refrigeración. Se ha demostrado que los aumentos en los niveles de ACC y de etileno son una respuesta de los tejidos sensibles al estrés por frío. Wang (1989) mostró que en frutos de pepino los niveles de ACC aumentaron linealmente con el aumento de la duración de la exposición al estrés por frío .

El daño por frío induce la biosíntesis de etileno a partir de S-adenosilmetionina (SAM) y ACC, siendo ambos, compuestos precursores del etileno (Fig. 4). El SAM se convierte en ACC mediante la acción de la ACC sintasa, aumentando su actividad significativamente cuando los tejidos están en condiciones de refrigeración.

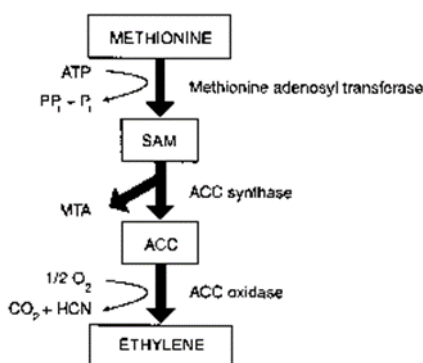


Figura D. Ruta biosintética del etileno a partir del aminoácido metionina (adaptado de Wang y col. (2002)).

La respuesta al efecto de refrigeración en la estimulación de la producción de etileno es dependiente de la especie vegetal. En el caso de pepinos y zucchini sometidos a temperaturas de daño por frío y luego transferidos a temperaturas altas, no ocurrió un aumento en la producción de etileno (**Andersen y Kent, 1982; Mencarelli y col., 1983**).

La conversión de ACC en etileno se ve modificada por la temperatura debido a que la enzima que regula la conversión de ACC a etileno está unida a la membrana, cuya integridad se ve afectada por el daño por frío.

2.5.6. Tasa respiratoria

El aumento sostenido de la tasa respiratoria después de la exposición prolongada a bajas temperaturas podría ser un indicativo de la perturbación metabólica irreversible y la acumulación de intermediarios oxidables. Los compuestos asociados con el metabolismo intermedio tales como piruvato, acetaldehído, etanol y cetoácidos pueden acumularse en tejidos refrigerados (**Pantastico y col., 1967**), cuyas concentraciones excesivas pueden causar un desequilibrio en el metabolismo. Por lo tanto, es probable que la acumulación de estos compuestos pueda ser un indicativo de alguna perturbación primaria, sin la necesidad del desarrollo de síntomas visibles en la superficie del fruto en condiciones de daño por frío.

2.5.7. Carbohidratos

Temperaturas bajas podrían reducir la utilización de carbohidratos para síntesis de ATP o intermediarios metabólicos y también acelerar la hidrólisis del almidón a carbohidratos solubles. En estas condiciones, la enzima invertasa a su vez puede aumentar la hidrólisis de sacarosa en azúcares reductores (**Purvis y Rice, 1983**). Por lo tanto, una mayor resistencia al daño por frío puede estar asociada con altos niveles de carbohidratos solubles debido al efecto inducido por las bajas temperaturas.

Los carbohidratos solubles pueden influir en el mecanismo de resistencia al daño por frío de varias maneras:

- (a) Contribuyen al potencial osmótico de la célula, reduciendo así la pérdida de agua de los tejidos
- (b) pueden estabilizar las membranas celulares y las enzimas al unirse directamente a las moléculas constitutivas
- (c) sirven como fuente de energía para las células vegetales

2.6. Regulación y manipulación del daño por frío

2.6.1. Manejo de la temperatura

Pueden emplearse diferentes manejos de temperatura para reducir el daño por frío en las frutas y hortalizas durante el almacenamiento, como por ejemplo almacenar en frío, pero a una temperatura lo suficientemente alta como para evitar los síntomas de daño.

Para los frutos que no son susceptibles de sufrir daño por frío, las temperaturas recomendadas para el almacenamiento son ligeramente superiores al punto de congelación del agua. Por otra parte, para cultivos sensibles al enfriamiento se recomiendan temperaturas de almacenamiento por encima del nivel crítico de enfriamiento de ese fruto específico (**Wang, 1989**).

2.6.2. Control de la atmósfera de almacenamiento

La eficacia de la atmósfera controlada en la reducción del daño por frío depende del tipo de fruto, las concentraciones de O₂ y CO₂ usadas, la duración del tratamiento y la temperatura de almacenamiento. En general, la forma más eficaz de utilización de este método para aliviar el daño por frío es el almacenamiento a bajas concentraciones de O₂ o altas concentraciones de CO₂ en la cámara de almacenamiento (**Aharoni y col., 2007; Pesis y col., 2000**).

2.6.3. Tratamientos químicos

Se ha demostrado que algunos productos químicos son eficaces para reducir el daño por frío. El tratamiento de pepinos y pimientos dulces con etoxiquina y benzoato de sodio mantuvo un mayor grado de insaturación de ácidos grasos en los lípidos polares y por ende reducción del daño por frío (**Wang y col., 1979**). La realización de tratamientos con un inhibidor de la acción del etileno, como el 1-metilciclopropeno (1-MCP), antes del procesamiento también reduce el deterioro durante el almacenamiento a baja temperatura. Siendo los principales efectos favorables el retraso de la senescencia, una reducción en la deshidratación y menor pardeamiento enzimático (**Massolo y col., 2011**).

2.6.4. Aplicación de hormonas

Se ha demostrado que mayores niveles endógenos de ácido abscísico (ABA) están relacionados con el aumento de la tolerancia al daño por frío. De este modo, un aumento de ABA endógeno antes de enfriamiento podría ser un paso esencial en la activación de un mecanismo de protección contra la lesión por frío durante la exposición a baja temperatura (**Zhang y col., 1987**). También, se ha demostrado que

el ABA es capaz de inducir la síntesis de proteínas responsables del aumento de la resistencia al frío en papa (**Chen y col., 1983**).

Teniendo en cuenta la reducción en los niveles de giberelinas en tomate durante el almacenamiento en frío, **Ding y col. (2015)** lograron una reducción en el daño por frío en dichos frutos mediante la aplicación de giberelinas, tratamiento que aumentó el metabolismo antioxidante enzimático. Si bien no se registran antecedentes en zapallito, la aplicación de esta hormona podría redundar positivamente en la conservación en frío en estos frutos.

2.6.5. Modificación genética

La ingeniería genética proporciona la oportunidad de modificar la sensibilidad al daño por frío mediante la inserción de genes de plantas resistentes al frío a las que padecen susceptibilidad al mismo. Las especies que crecen en regiones geográficas en altura suelen ser menos sensibles al frío que las plantas de baja altitud (**Patterson y Reid, 1989**). Por lo tanto, dichas plantas pueden ser utilizadas como fuente de genes para realizar transferencia de los mismos a las especies sensibles al frío. Sin embargo, el principal problema radica en que muchos cultivos no tienen una línea compatible para la transferencia de los genes que inducen la resistencia al enfriamiento. Dado que los cultivares comerciales suelen poseer poca variación genética (**Patterson y col., 1989**), se requiere el uso de los tipos silvestres (con un mayor grado de variabilidad genética) para proporcionar los genes resistentes al frío. Una vez conseguidos ejemplares resistentes al frío, pueden ser necesarios muchos cruces para adquirir la propiedad deseable de resistencia a bajas temperaturas y conservar todavía una alta calidad organoléptica.

2.7. Senescencia

La senescencia es una de las etapas finales del desarrollo de un vegetal. Generalmente se puede evidenciar por el amarilleamiento que sufren las células verdes superficiales a causa de la degradación de clorofila. Esta transformación visual es acompañada por cambios metabólicos en compuestos almacenados en los tejidos durante el desarrollo para ser transferidos a otras partes de la planta, como el caso de los metabolitos almacenados en hojas y que son transportados a células especializadas del tallo o a las semillas.

Dado que la senescencia es un proceso fisiológico en el cual el tejido vegetal se encuentra en una situación desfavorable, ocurre una readaptación de su metabolismo

a través de una sucesión de patrones característicos que pueden describirse en tres etapas:

I. **Iniciación:** debido a un estímulo hormonal o ambiental se produce la activación de algunos genes e inhibición de otros produciéndose un cambio en el estado redox de las células junto con un redireccionamiento del metabolismo.

II. **Reorganización:** se accionan rutas de movilización y reciclado de nutrientes; hay desorganización de los cloroplastos dejándose de producir energía a partir de la luz solar y generándose a través de reservas; diferenciación de organelas, por ejemplo, la transición de cloroplastos a gerontoplastos.

III. **Fase terminal:** se liberan radicales libres, hay pérdida irreversible de integridad y la célula no es más viable.

Los vegetales que son cosechados cuando su desarrollo no está completo o su crecimiento no ha finalizado, sufren un estrés importante debido al corte de suministro energético, nutricional y hormonal una vez retirados de la planta. La senescencia puede ocurrir naturalmente cuando un órgano o la planta entera empiezan una determinada etapa fisiológica o en su defecto al ser inducida prematuramente debido a condiciones ambientales adversas, entre las que se cuenta la cosecha del vegetal. El proceso se encuentra regulado de manera tal que los elementos celulares sean desmantelados paso a paso, permitiendo la removilización de nutrientes. Como primer síntoma visible se produce la degradación de clorofila, pero al momento del amarilleamiento, una gran parte del proceso ya fue llevado a cabo. Numerosas nucleasas cuya expresión se ve incrementada durante la senescencia se encargan de la degradación de ácidos nucleicos, especialmente el ARN. Junto con la destrucción de proteínas y de ARN se produce paralelamente la pérdida de la actividad fotosintética.

2.7.1. Características principales de la senescencia:

- **Degradación de clorofilas:**

Es el cambio más temprano y evidente de la senescencia, al producir un amarilleamiento en el fruto. La enzima clave en la ruta de degradación parece ser la feoforbido-a oxigenasa (PaO), que cliva el feoforbido de la clorofila para producir RCCs (*Red Chlorophyll Catabolites*), logrando de esta manera eliminar la fotoactividad y a su vez deverdizando el tejido vegetal (**Matile y col., 1999**).

- **Modificación del metabolismo de proteínas:**

Se produce una importante degradación y movilización las proteínas las cuales se encuentran en su mayoría en los cloroplastos (**Thomas y Donnison, 2000**). Las

proteínas que forman parte de los complejos proteína-pigmento son degradadas por proteasas liberando la clorofila. Hay producción de proteasas que se dirigen a vacuolas y cloroplastos. Además, se aumenta la actividad de peroxidasas, catalasas, peptidasas y polifenol oxidasas.

En definitiva, durante la senescencia se produce un redireccionamiento en la síntesis de proteínas. Por último, en etapas avanzadas se expresan genes para enzimas que actúan frente a otros tipos de estrés (por ejemplo, proteínas antifúngicas).

- **Degradación de lípidos:**

Se produce un cambio estructural y funcional de la membrana debido a un metabolismo acelerado de los lípidos de membrana (**Thompson y col., 1998**). Se remobilizan lípidos de las membranas tilacoidales para ser utilizados como fuente de carbono y energía.

- **Degradación de ácidos nucleicos:**

En el proceso de senescencia sucede un aumento de la síntesis y actividad de nucleasa lo que da como resultado una degradación acentuada de ARN en las primeras etapas y de ADN hacia el final del proceso.

- **Alteración de membranas y desorganización de tejidos:**

Se producen cambios citológicos importantes: reducción en el número de ribosomas, transición de cloroplastos a gerontoplastos, desaparición de los gránulos de almidón, pérdida de densidad de tilacoides, formación de glóbulos de lípidos, el retículo endoplasmático tubular se transforma en vesicular, posteriormente ocurre una desaparición del retículo endoplásmico y del aparato de Golgi junto con la desintegración de las membranas celulares.

Las membranas cambian su composición debido a un aumento de la degradación de fosfolípidos y finalmente de la permeabilidad, lo que da una pérdida importante de agua y deshidratación de tejidos (**Dhindsa y col., 1981**).

2.7.2. Regulación hormonal de la senescencia

El control hormonal de la senescencia está dado por dos hormonas: citocininas y etileno. Elevadas concentraciones de citocininas retrasan la senescencia, mientras que la presencia de etileno la acelera (**Gan y Amasino, 1997**).

El efecto de las citocininas sobre la senescencia se comprobó a través de la aplicación exógena de estas hormonas o en plantas transgénicas en las cuales la modificación genética consiste en un aumento de los niveles de citocininas endógenas. El tratamiento con 6-BAP (6-bencilaminopurina, citocinina) en brócoli inhibe la actividad clorofilasa, Mg-dequelatasa, peroxidasa y el aumento de la

expresión de genes asociados a la degradación de clorofilas (**Costa y col., 2005; Büchert y col., 2011**).

Por otro lado, se ha demostrado que plantas expuestas al etileno llegan más rápido a la senescencia. Uno de los tratamientos químicos poscosecha más utilizados es la aplicación de 1-metil-ciclopropeno (1-MCP). Este compuesto es un bloqueador selectivo de los receptores de etileno, y por lo tanto fue utilizado en tratamientos para retrasar tanto la senescencia como la maduración de hortalizas (**Pogson y col. 1995; Gong y Mattheis, 2003**), así como reducir el daño por frío y mejorar la vida poscosecha de zapallito redondo (**Massolo y col., 2013**).

2.8. Métodos de conservación y tratamientos poscosecha

Algunos vegetales sufren procesos de senescencia acelerados al ser almacenados a temperaturas altas, por ejemplo 20°C, lo que se visualiza mediante la disminución de calidad visual debido al amarilleamiento, acompañado de una pérdida de calidad nutricional mediante la disminución tanto del contenido de proteínas, ácido ascórbico y otros compuestos asociados a la calidad (**Costa y col., 2005; Jones y col., 2006**).

Por lo tanto el método más comúnmente aceptado para reducir la senescencia es el almacenamiento refrigerado a humedad constante, que a su vez puede estar acompañado de diversos tratamientos poscosecha como los siguientes:

➤ *Atmósferas modificadas:*

Las atmósferas modificadas (AM) se definen como el envasado de un producto perecedero en una atmósfera que ha sido modificada logrando una composición diferente a la de aire para mejorar su conservación a lo largo del almacenamiento (**Al-Ati y Hotchkiss, 2003**). Se diferencian de las atmósferas controladas en que estas últimas mantienen su concentración de gases (O₂, N₂ y CO₂) constante por medio de monitoreo y agregado de gases (**Rodríguez-Aguilera y Oliveira, 2009**).

Luego del envasado, la atmósfera dentro del envase puede modificarse por medio de la respiración del producto y la permeabilidad selectiva a los gases del film que lo rodea.

➤ *Tratamiento térmico (TT):*

Consiste en exponer el material vegetal a un calentamiento leve sin llegar a una lesión permanente, de modo que el producto reduzca su velocidad de maduración o senescencia y de esta manera adquiera resistencia a futuras situaciones de estrés. Se pueden utilizar metodologías tales como sumergir el vegetal en agua caliente (**Tian y col., 1997**) o tratamientos con aire caliente (**Funamoto y col., 2002**). El TT provoca una desaceleración del metabolismo del vegetal, por lo que se disminuye la síntesis de

etileno y la respiración. De igual manera, se produce un menor ablandamiento de los tejidos y una menor reducción del contenido de clorofilas, alargando la vida poscosecha de los productos.

El TT es utilizado también para reducir la incidencia del ataque de patógenos y el desarrollo de enfermedades, afectando directamente al agente patógeno o induciendo mecanismos de defensa en el vegetal (**Ferguson y col., 2000**). A su vez también el tratamiento de sumersión en agua caliente es muy efectivo para la desinfección de insectos debido a que el agua caliente es un medio más eficiente de transferencia de calor respecto del aire.

➤ *Tratamientos con 1-MCP:*

Debido a que el etileno acelera el proceso de senescencia, la estrategia comercial más común en los productos hortícolas es evitar la exposición al mismo, o minimizar su producción y su acción durante la cosecha, almacenamiento y transporte mediante el control de la temperatura y la atmósfera (**Watkins, 2006**).

Por lo tanto, el 1-MCP es utilizado en poscosecha debido a su cualidad de inhibidor competitivo del etileno dada su interacción con los receptores específicos, a los que se une irreversiblemente y compite por los sitios de unión con una afinidad aproximadamente 10 veces superior (**Blankenship y Dole, 2003**). Ello finalmente previene de las respuestas en cascada dependientes del etileno (**Sisler y Serek, 2003**).

2.9. Factores pre-cosecha involucrados en la calidad poscosecha

Hay diferentes estrategias o tratamientos pre-cosecha que ayudan a obtener una mejor calidad en poscosecha. Por ejemplo, el horario en que se realiza la cosecha podría ser un factor a tener en cuenta ya que se encontró que cosechando distintas hortalizas hacia la tarde mejoró la vida poscosecha de las mismas respecto de las cosechadas a la mañana (**Clarkson y col., 2005; Hasperué y col. 2011**). El estrés hídrico en pre-cosecha favorece niveles superiores de citocininas por lo cual provoca un retraso en el amarilleamiento durante el almacenamiento. Se ha sugerido que, en momentos de escasez de agua, la raíz incrementa su volumen para aumentar la superficie de exploración, lo que a su vez favorece la síntesis de mayores cantidades de dicha hormona, que luego será translocada al resto de la planta, y por lo tanto, al órgano que será cosechado, permitiendo de este modo retrasar la senescencia durante la poscosecha (**Wurr y col., 2002; Zaicovski y col., 2008**).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL:

Evaluar el efecto del estadio de desarrollo de zapallito redondo sobre la calidad y deterioro durante el almacenamiento poscosecha.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Evaluar si existe respuesta diferenciada de zapallito redondo a temperatura de daño por frío (0 °C) en relación a 3 diferentes estados de desarrollo.

Analizar el efecto de la temperatura óptima de almacenamiento de esta hortaliza (5 °C) en función de su tiempo de cosecha.

Determinar si existen diferencias de apariencia sensorial, contenido de metabolitos y pigmentos, variables metabólicas y comportamiento poscosecha de zapallitos en estados de desarrollo “baby”, intermedio y comercial.

3.3. HIPÓTESIS:

Hipótesis 1: El estadio de desarrollo a la cosecha afecta marcadamente la susceptibilidad al daño por frío, la calidad y el comportamiento poscosecha de frutos de zapallito redondo.

Hipótesis 2: La temperatura óptima de almacenamiento poscosecha difiere entre estadios de desarrollo.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Material vegetal

Se cosecharon zapallitos en 3 estadios de desarrollo en un invernáculo en la zona de La Plata en el mes de noviembre: estadio “I” o baby (diámetro: $3 \pm 0,5$ cm), estadio “II” (diámetro: $7 \pm 0,5$ cm) y estadio “III” o comercial (diámetro: $9 \pm 0,5$ cm) y se trasladaron inmediatamente al laboratorio. Se seleccionaron aquellos libres de defectos y que presentaron color y forma homogéneos. Se lavaron con agua clorada, se escurrieron y dejaron secar. Por último, los frutos se colocaron en bandejas plásticas que se cubrieron con film PVC perforado y se almacenaron a 0 o 5 °C (85-90% HR). A diferentes tiempos de almacenamiento se extrajeron bandejas y se colocaron a 20 °C durante 2 días para exacerbar los cambios que pudiesen producirse bajo refrigeración y simular una condición comercial.

Para el almacenamiento a 0 °C se retiraron bandejas de las cámaras a los 0, 7+2, 12+2 y 19+2 días. Seguidamente, se determinó un índice de daño por frío, color superficial, contenido de carotenoides, clorofilas, capacidad antioxidante, cantidad de compuestos fenólicos, deformación a la ruptura, pérdida de peso, tasa respiratoria, acidez, sólidos solubles y azúcares totales en función del tiempo de almacenamiento. En el caso de los frutos almacenados a 5 °C, los días de muestreo fueron 0, 12+2, 19+2 y 26+2. Las determinaciones analíticas fueron las mismas que las realizadas en las muestras almacenadas a 0 °C.

4.2. Determinaciones analíticas

a. Índices de deterioro (ID) y de daño por frío (IDF): Se evaluó en zapallitos almacenados tanto a 0 como a 5 °C (condiciones de DF) el picado superficial, escaldaduras, ablandamiento y amarilleamiento dependiendo del caso. Se utilizó una escala de 0 a 4 para cada defecto, siendo: 0= sano, 1= leve, 2= moderado y 3= considerable y 4= severo. Los índices de deterioro y daño por frío se calcularon según:

$$ID \text{ o } IDF = \frac{\sum [\text{nivel de deterioro o daño por frío} \times \text{N}^\circ \text{ de frutos en el nivel}]}{\text{N}^\circ \text{ total de frutos en el tratamiento}}$$

b. Tasa respiratoria: Para la medida, se colocaron los frutos de cada bandeja en un frasco hermético y estos se almacenaron por 15 min a 20 °C. Se registró la concentración de CO₂ en el espacio de cabeza con un sensor IR (Alnor Compu-flow, modelo 8650, EEUU). Se calculó la tasa respiratoria de los frutos y se expresó como mmol kg⁻¹ h⁻¹.

c. Clorofilas: El contenido de clorofilas se determinó según **Lichtenthaler (1987)**. Se extrajo la cutícula del fruto, se congeló con N₂(g) y se pulverizó empleando un molinillo. Luego se pesaron 0,2 g del polvo obtenido y se realizó la extracción del pigmento con acetona/agua 80:20 en tubos de vidrio. Para agotar la extracción (pellet deverdizado) fueron necesarias 3 extracciones seriadas. Luego, el polvo disperso en la mezcla de solventes se dejó en oscuridad, se centrifugó y se midió la absorbancia en el sobrenadante a 645 nm (clorofila *b*) y 663 nm (clorofila *a*) en un espectrofotómetro Shimadzu, UV Mini-1240, Japón). El contenido de clorofila *a*, *b* y total se calculó de acuerdo a **Lichtenthaler (1987)** y los resultados se expresaron en mg kg⁻¹.

d. Color: Las medidas se hicieron con un colorímetro (Minolta, Modelo CR-400, Japón) directamente sobre el fruto intacto, con el que se obtuvieron los parámetros L*, a* y b* y a partir de los cuales se calcularon el ángulo Hue y la cromaticidad C* (**McGuire, 1992**).

e. Firmeza: La textura o firmeza se midió utilizando un texturómetro (Texture Expert, modelo TA.XT2, USA) equipado con una sonda de 3 mm de diámetro. Cada

fruto se comprimió 10 mm en la zona ecuatorial. Para determinar la firmeza (expresada en N) se registró la fuerza máxima (F. máx.) necesaria para la ruptura del tejido, se calcularon las pendientes de las curvas de deformación (“resistencia a la deformación o penetración en N mm⁻¹”) y se registraron las distancias a la ruptura (mm) del tejido.

f. Carotenoides: La determinación se llevó a cabo de acuerdo a **Heredia y col. (2009)** con algunas modificaciones. La pulpa triturada y congelada de zapallito se extrajo con hexano:acetona:etanol (2:1:1, v/v). Luego se agregó agua y se permitió la separación de ambas fases. Se midió la absorbancia de la fase hexano (fase superior) a 454 nm y se calculó el contenido de carotenos utilizando β -caroteno como estándar. Los resultados se expresaron como mg kg⁻¹ de peso fresco.

g. Compuestos fenólicos totales: Se efectuó un extracto etanólico con tejido molido de zapallito y el contenido de compuestos fenólicos totales se llevó a cabo de acuerdo a **Singleton y col. (1999)** empleando el reactivo de Folin-Ciocalteu. Se realizó una curva de calibración con ácido clorogénico como estándar y los resultados se expresaron en g kg⁻¹.

h. Capacidad antioxidante total: La capacidad antioxidante se midió de acuerdo a **Arnao y col. (2001)** basándose en la reducción de la absorbancia a 734 nm de la solución de trabajo de ABTS^{•+} por parte de los antioxidantes presentes en un extracto etanólico de zapallito. Se utilizó Trolox como estándar y los resultados se expresaron como capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) en mg kg⁻¹.

i. Azúcares solubles: El contenido de azúcares solubles en extracto etanólico se midió según **Yemm y Willis (1954)** empleando el reactivo de antrona. Se utilizó glucosa como estándar y los resultados se expresaron en g kg⁻¹.

j. Acidez: Para el análisis en frutos frescos se obtuvieron porciones en forma de gajos (50-100 g). Las muestras respectivas se congelaron con N₂ líquido y se procesaron con un molinillo eléctrico. Seguidamente, se colocaron 10 g del polvo obtenido en un vaso de precipitado y se adicionaron 100 mL de agua destilada. Se midió el pH inicial y la acidez se determinó por titulación con NaOH de normalidad conocida hasta pH 8,2 determinado en forma potenciométrica (**AOAC, 1980**).

4.3. Análisis estadístico

Las determinaciones se realizaron siguiendo un diseño factorial. Los datos se analizaron por medio de un ANAVA empleando el software INFOSTAT y las medias se compararon con el test de LSD a fin de determinar las diferencias mínimas significativas a un nivel de significancia de p<0,05.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Influencia del estadio de desarrollo sobre la calidad y susceptibilidad al daño por frío de zapallito redondo almacenado a 0 °C

5.1.1. Apariencia e Índice de daño por frío

Se evaluó la susceptibilidad al daño por frío (DF) en los zapallitos en los estadios I, II y III almacenados a 0 °C y posteriormente transferidos durante 2 días a 20 °C. El síntoma inicial detectado fue una pérdida de brillo, seguida de la formación de sutiles depresiones superficiales que posteriormente coalescieron y formaron, en etapas avanzadas, áreas de escaldaduras necróticas sobre las que se produjo un ataque fúngico. Estudios en zucchini mostraron que los frutos son altamente susceptibles al DF, y que el almacenamiento por debajo de 5 °C durante 2 días es suficiente para detectar daños en la superficie (**Molinar y col., 1999**). Los resultados del presente estudio sugieren que los zapallitos redondos serían menos sensibles al DF ya que los síntomas iniciales aparecieron después de 7+2 días a 0 °C. La sintomatología de DF a 0 °C fue similar en las tres etapas de desarrollo. Sin embargo, los frutos "baby" mostraron una mayor incidencia y severidad de DF que los más maduros (Fig. 1 B). Esto está en línea con lo que se ha informado **Brew y col. (2006)** en zucchinis pero no en berenjenas (**Zaro y col., 2014**). Visualmente, no se detectaron diferencias significativas en la susceptibilidad de DF entre los frutos de estadios II y III.

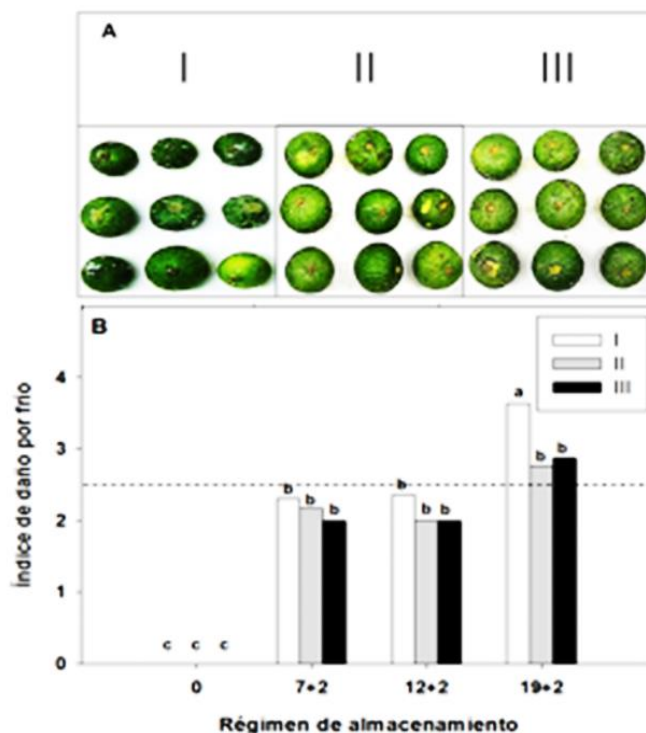


Figura 1. A) Apariencia de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III luego de 19 días a 0°C + 2 días a 20 °C. B) Índice de deterioro de frutos almacenados por 0, 7, 12 y 19 días a 0 °C + 2 días a 20 °C. La línea punteada indica el límite de vida útil de los frutos. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher ($P < 0,05$).

5.1.2. Color superficial y pigmentos

Al comparar entre los distintos días de almacenamiento, la luminosidad (parámetro L^*) de los zapallitos disminuyó con el paso del tiempo en los frutos de los estadios I y II, mientras que en los del estadio III se mantuvo en valores similares. Los zapallitos baby fueron los que tuvieron los mayores valores de L^* a lo largo del almacenamiento, mientras que los del estadio III los de menor valor. Al evaluar el parámetro Tono (ángulo Hue), se observó que los zapallitos del estadio I sufrieron pérdida de color verde mientras que los de los estadios II y III mantuvieron prácticamente constante el color durante el transcurso del almacenamiento.

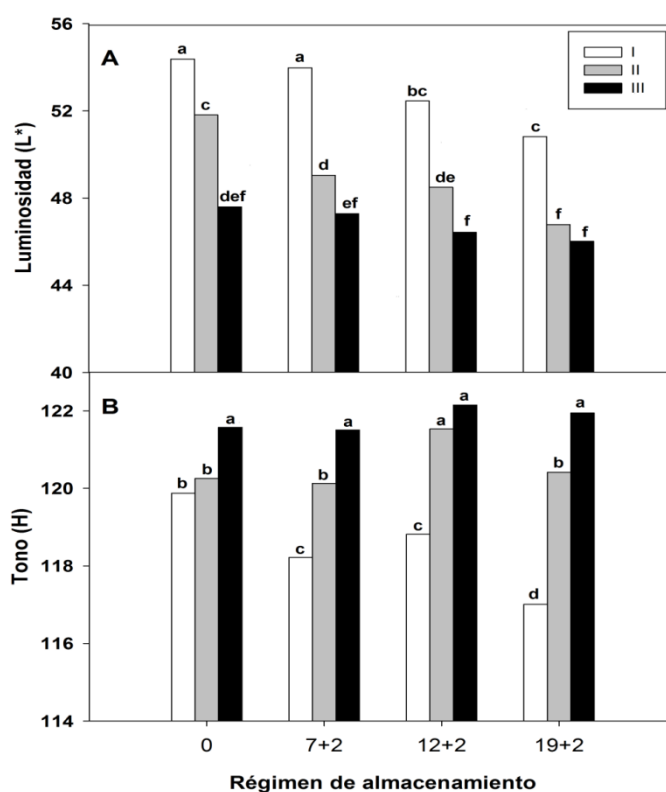


Figura 2. A) Luminosidad (L^*), B) tono (ángulo Hue) de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III almacenados por 0, 7, 12 y 19 días a 0 °C + 2 días a 20 °C. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher ($P < 0,05$).

Los frutos del estadio III presentaron los valores de Hue más altos, indicando un aumento del color verde durante el desarrollo. Esto, junto con el rápido crecimiento en

etapas avanzadas del desarrollo, se deba probablemente a un incremento de la síntesis de clorofila durante el desarrollo contrariamente a lo que ocurre en otras especies vegetales (**Hörtensteiner, 2006; Hurr y col., 2009**).

El contenido de carotenoides en frutos “baby” superó ampliamente el nivel de los zapallitos más desarrollados (Fig. 3A), excepto al d7+2. La diferencia observada desde d0 ha sido previamente reportada por Massolo (2015). Hacia el final de la vida útil (d19+2), se observaron amplias diferencias entre los estadios I, II y III. Por otra parte, los frutos de los estadios II y III presentaron contenidos de carotenoides similares entre sí, evidenciando diferencias significativas únicamente a d19+2. El aumento en el contenido de carotenoides observado en los frutos ‘baby’ correlacionó con la disminución del tono (Hue) produciéndose un amarilleamiento más pronunciado en éstos, a pesar del aumento en el contenido de clorofilas detectado a lo largo del almacenamiento en frutos de todos los estadios de desarrollo (Fig. 3B). Este comportamiento difiere entre especies de la misma familia (cucurbitáceas), donde el contenido de clorofila disminuye a lo largo del almacenamiento (**Hurr y col., 2009**). Los frutos del estadio I presentaron un menor contenido de clorofilas con respecto a los estadios II y III hacia el final del almacenamiento. La menor cuantía de clorofilas en el estadio I con respecto a los más desarrollados es concomitante con el aumento en el contenido de carotenoides a lo largo del almacenamiento.

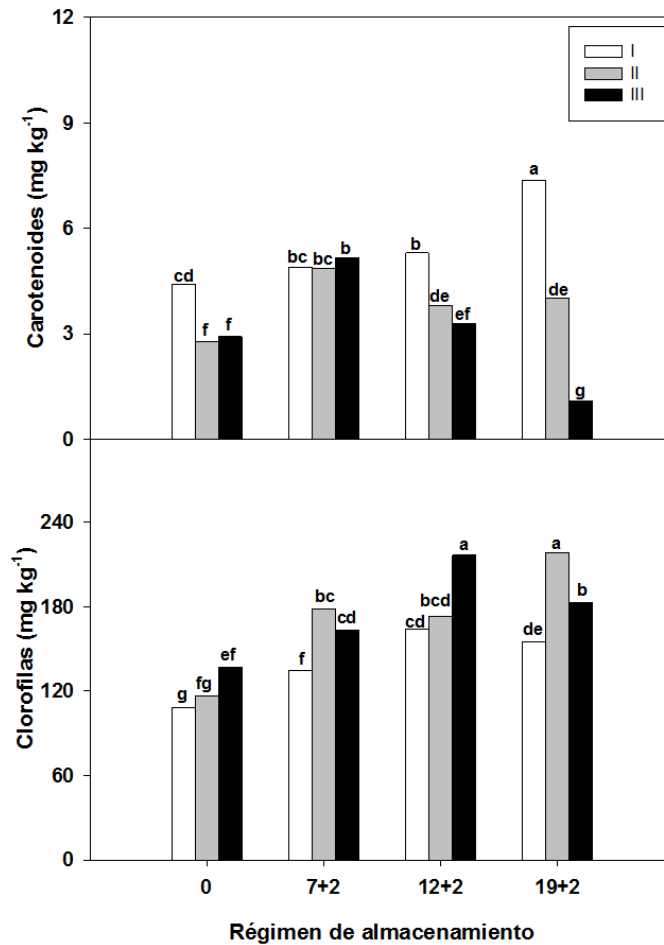


Figura 3. A) Contenido de carotenoides y de B) clorofilas de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III almacenados por 0, 7, 12 y 19 días a 0 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher ($P < 0,05$).

5.1.3. Capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos

La capacidad antioxidante contra ABTS^{•+} resultó mayor a mayor estadio de desarrollo (Fig. 4A). **Corrales-Bernal y col. (2015)** observaron resultados equivalentes en frutos de uchuva en diferentes estadios de maduración. El contenido de antioxidantes disminuyó en los frutos del estadio I hacia el día 7+2 mientras que en los estadios II y III se mantuvo e incluso aumentó desde el día 12+2 en los frutos del estadio III.

Al observar la figura 4B se observa que los frutos de menor estadio de desarrollo presentaron mayor cantidad de compuestos fenólicos tanto respecto de los otros 2 estadios como en el almacenamiento. **Galani y col. (2017)** sugirieron que el aumento del contenido de compuestos fenólicos a lo largo del almacenamiento refrigerado de hortalizas podría ser una respuesta a condiciones climáticas adversas que conducen a la síntesis de fitoalexinas polifenólicas, un aumento de la actividad de la enzima

fenilalanina amonio liasa (PAL) y un nivel más bajo de actividad de la enzima polifenoloxidasasa (PPO, responsable de la oxidación de sustratos fenólicos a quinonas).

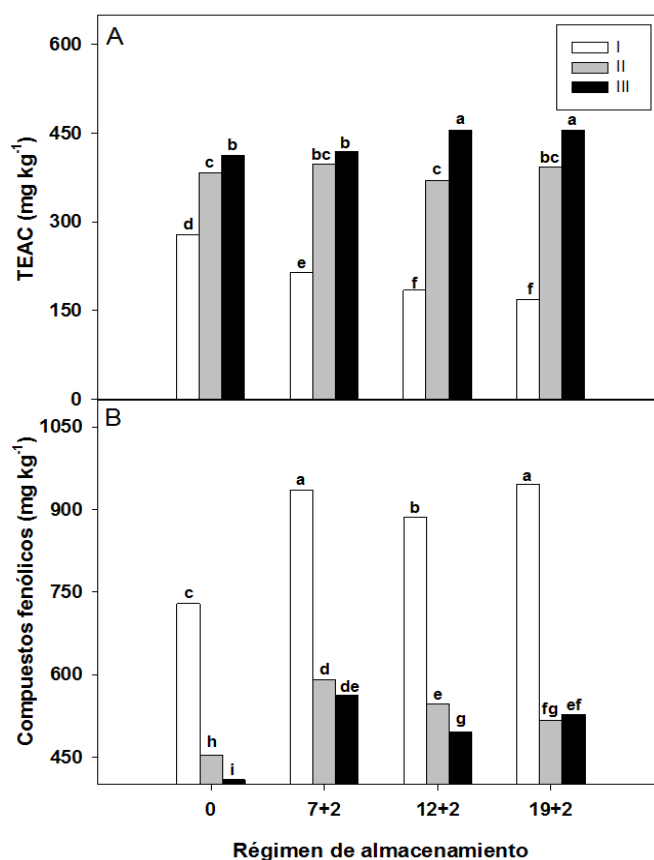


Figura 4. (A) Capacidad antioxidante (TEAC) y (B) contenido de compuestos fenólicos de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III almacenados por 0, 7, 12 y 19 días a 0 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher ($P < 0,05$).

5.1.4. Deformación a la ruptura (DR)

La DR es un parámetro que correlaciona directamente con la pérdida de firmeza ya que a mayor DR, menor firmeza. En el presente trabajo se observó que al día 0 la firmeza no presentó diferencias entre los estadios de desarrollo de los zapallitos. Por otro lado, todos los frutos mostraron un aumento de la DR al día 7+2, aunque este incremento se intensificó al final del almacenamiento en los zapallitos "baby". Esta dependencia de la firmeza con el estadio de desarrollo ha sido demostrada por **O'Donoghue y col. (1997)** en pepino, una cucurbitácea que se consume en estado inmaduro como el zapallito. Por último, este comportamiento diferenciado puede atribuirse a la distinta susceptibilidad a la pérdida de peso entre estadios, que es bien sabido que puede afectar marcadamente la textura (**Zhang y col. 1996**).

Por otra parte, **Carvajal y col. (2015)** analizando la pared celular en zucchini, indicaron una relación importante entre el desarrollo de daño por frío y la degradación de la pared celular. El almacenamiento en frío aumenta la solubilización de pectinas además de la pérdida de hemicelulosa y celulosa (**Fonseca y col., 2005**).

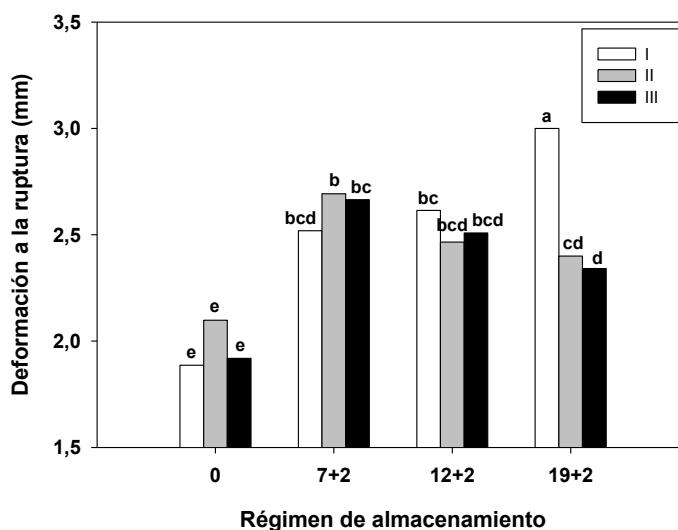


Figura 5. Distancia de ruptura de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III almacenados por 0, 7, 12 y 19 días a 0 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher ($P < 0,05$).

5.1.5. Pérdida de peso y tasa respiratoria (TR)

A lo largo del almacenamiento, la pérdida de peso fue mayor en los frutos “baby” alcanzando hacia el día 12+2 casi un 10% respecto del peso inicial, mientras que para los más desarrollados resultó ser cerca del 5% (Fig. 6A). Como era de esperar, la deshidratación resultó ser mayor en los frutos más pequeños debido a su mayor relación superficie/volumen y a un desarrollo incompleto de la cutícula (**Suslow y Cantwell 2013 a, b**) que reduce la resistencia a la pérdida de vapor de agua y/o exudación. Con respecto al metabolismo respiratorio, al inicio del almacenamiento, los frutos del estadio I presentaron una mayor tasa respiratoria (TR) en comparación con los zapallitos más desarrollados (Fig. 6B). Ello podría correlacionarse con la menor vida poscosecha de los frutos del estadio I respecto de los estadios II y III (Fig. 1B). Ambos parámetros sugieren un metabolismo más acelerado en los frutos de menor estadio de desarrollo comparado con los estadios II y III, que además entre sí tuvieron un comportamiento similar. En cuanto a la progresión a través de los días de almacenamiento refrigerado se puede decir que hay un aumento de la TR hasta el día 7+2 y una subsecuente reducción hacia el día 12+2. Un comportamiento similar se

observó en pepinos, ya que presentaron un aumento y luego reducción de la actividad respiratoria durante el almacenamiento a 0 °C (**Fukushima y Tsugiyama, 1977**).

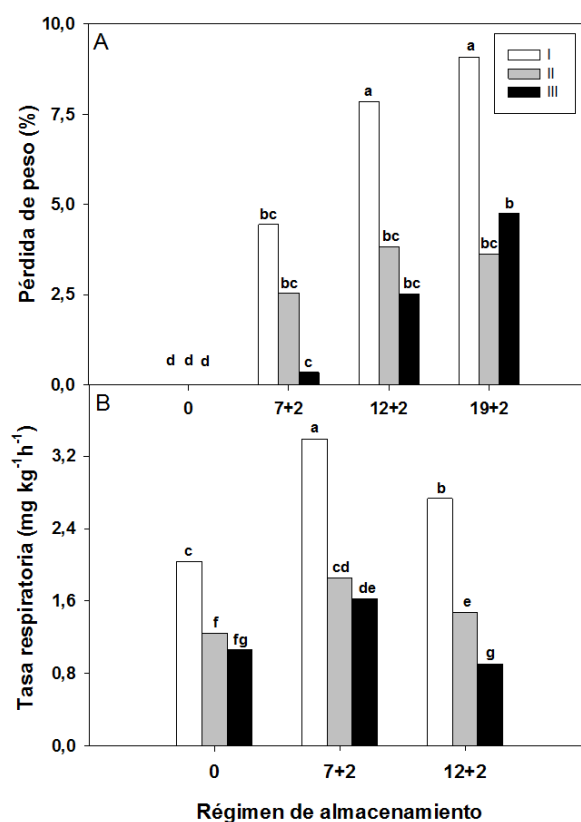


Figura 6. A) Pérdida de peso y B) tasa respiratoria de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III almacenados por 0, 7 y 12 días a 0 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher ($P < 0,05$).

5.1.6. Acidez

Con excepción al día inicial donde se evidenciaron valores bajos, la acidez disminuyó durante el almacenamiento en los frutos de todos los estadios de desarrollo (Fig. 7). En este caso a día 0 se observó una mayor acidez en los frutos menos desarrollados mientras que, por otro lado, en pepino se observó un aumento de la acidez de los frutos con el progreso del desarrollo (**Davies y Kempton, 1976**)

Al día 7+2 los zapallitos de estadio I superaron ampliamente los valores de los estadios II y III. A partir del día 12+2 se produjo una reducción de la acidez para los tres estadios, observación similar a lo ocurrido en pepinos (**Fukushima y col. 1977**).

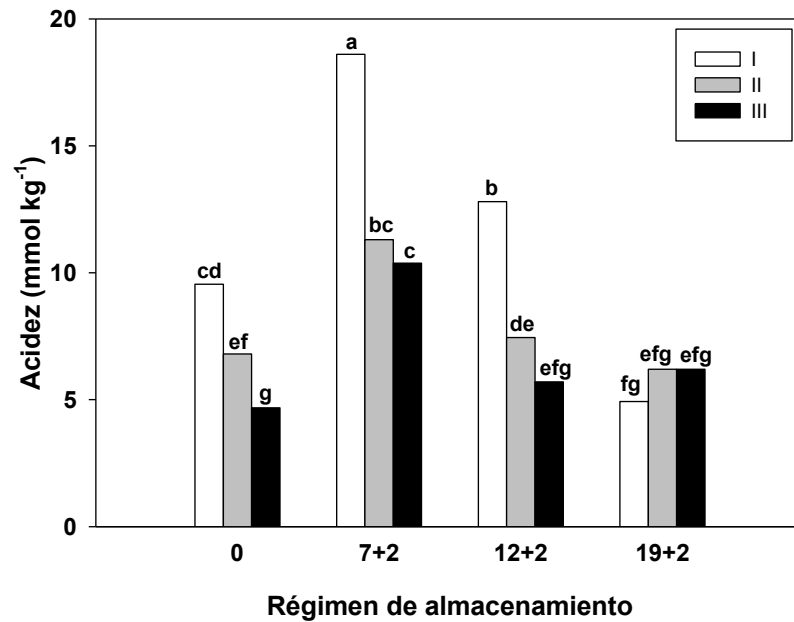


Figura 7. Acidez de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III almacenados por 0, 7, 12 y 19 días a 0 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher ($P < 0,05$).

5.1.7. Sólidos solubles y azúcares totales

En general, el contenido de sólidos solubles no presentó grandes cambios entre los estadios de desarrollo ni durante el almacenamiento (Tabla 3). Por otro lado, los frutos intermedios y comerciales presentaron un contenido de azúcares totales inicial similar que hacia el final del almacenamiento (19+2 días) mientras que el estadio I sufrió una fuerte disminución. **Saltveit (2011)** sugirió que el contenido de azúcares en melón (*Cucumis melo L.*) disminuye después de la cosecha debido a la falta de carbohidratos de almacenamiento para ser hidrolizados a azúcares simples.

Tabla 3. Contenido de sólidos solubles y de azúcares totales de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III almacenados por 0, 7, 12 y 19 días a 0 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher ($P < 0,05$).

		Estado de desarrollo	Régimen de almacenamiento			
			0	7+2	12+2	19+2
Sólidos solubles (%)	I	7,1 ^{ab}	7,4 ^a	6,2 ^{bc}	6,1 ^{bc}	
	II	5,5 ^c	7,0 ^{ab}	5,5 ^c	5,5 ^c	
	III	6,1 ^{bc}	5,0 ^c	5,5 ^c	5,6 ^c	
Azúcares totales (g kg⁻¹)	I	47 ^{ab}	43 ^{abc}	33 ^{cd}	23 ^d	
	II	48 ^{ab}	50 ^a	49 ^a	37 ^{bc}	
	III	38 ^{bc}	31 ^{cd}	34 ^c	33 ^{cd}	

5.2. Efecto del estadio de desarrollo sobre la senescencia y el comportamiento poscosecha de zapallito almacenado a 5 °C

5.2.1. Índice de deterioro (ID)

El índice de deterioro de los frutos (ID) aumentó con el avance del tiempo de almacenamiento. Los síntomas iniciales que contribuyeron a la pérdida de calidad del fruto fueron la deshidratación de la superficie y el amarilleamiento, especialmente en los frutos del estadio I. Estos se mostraron al día 19+2 más deteriorados (opacos, amarillentos, deformes y blandos) que los de los estadios II y III (Fig. 8A), lo cual se vio reflejado además en un mayor índice de deterioro (Fig. 8B). Se observó que los frutos de menor desarrollo llegaron al final de su vida útil a los días 19+2 mientras que los frutos más desarrollados se mantuvieron por una semana más (día 26+2). Resultados similares fueron encontrados por **Zaro y col. (2014)** en frutos de berenjena, donde los frutos de menor desarrollo resultaron más susceptibles al deterioro durante el almacenamiento.

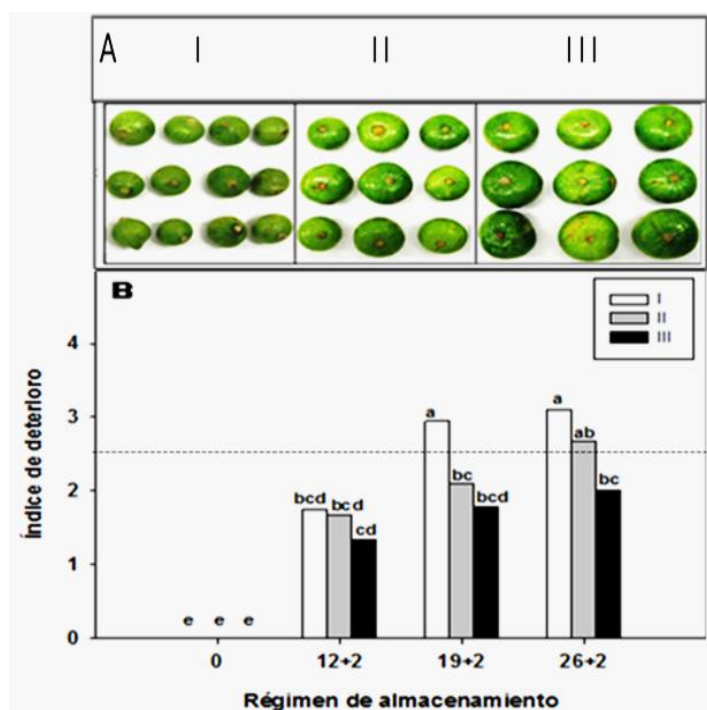


Figura 8. A) Apariencia de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III luego de 19 d a 5 °C y 2 d a 20 °C. B) Índice de deterioro de frutos almacenados por 0, 12, 19 y 26 días a 5 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días. La línea punteada indica el límite de vida útil de los frutos. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher ($P < 0,05$).

5.2.2. Color superficial y pigmentos

Durante el desarrollo, los zapallitos se volvieron más oscuros, como lo demuestra el descenso en el parámetro L^* entre los frutos "baby" y los frutos de

mayores estadios de desarrollo antes del almacenamiento (Fig. 9 A). Los frutos de los estadios I y II mostraron valores de tono similares al día de la cosecha. Por el contrario, los frutos del estadio III presentaron valores de tono más altos, lo que indica que el fruto se volvió más verde durante el desarrollo tardío. Esto, junto con el rápido crecimiento que ocurre en el último período de desarrollo del fruto, muestra un aumento en la capacidad del mismo para sintetizar clorofila durante ese proceso a diferencia de lo que ocurre en la mayoría de las otras especies (**Hörtensteiner, 2006; Hurr y col., 2009**). Los zapallitos “baby” mostraron una clara tendencia al amarilleamiento en almacenamiento, como se ve en la rápida disminución en los valores de tono (Hue). La reducción en los valores de Hue durante el almacenamiento fue tres veces menor en los zapallitos de los estadios II y III que en los del estadio I. La pérdida de color verde en los frutos del estadio III fue evidente sólo después de los 19+2 días de almacenamiento.

En la cosecha, el contenido de carotenoides (Fig. 10 A) de los zapallitos “baby” fue 60% mayor que en los estadios II y III. También se ha encontrado una mayor concentración de nutrientes en otras hortalizas “baby” en comparación con otras más desarrolladas (**Zaro y col., 2014**). Las diferencias en el contenido de carotenoides entre los estadios de desarrollo de zapallito aumentaron durante el almacenamiento. Esto es consistente con los resultados reportados por **Obrero y col. (2013)** en zucchini. En línea con los cambios descritos en el color superficial, las clorofilas tienden a acumularse en mayores niveles en los zapallitos II y III, de 30 a 50% más, luego de 12+2 días a 5 °C, lo que confirma que la capacidad biosintética de los frutos persiste incluso a temperaturas bajas como 5 °C. En tiempos de almacenamiento más largos, se produjo una pérdida neta de clorofilas (Fig. 10 B).

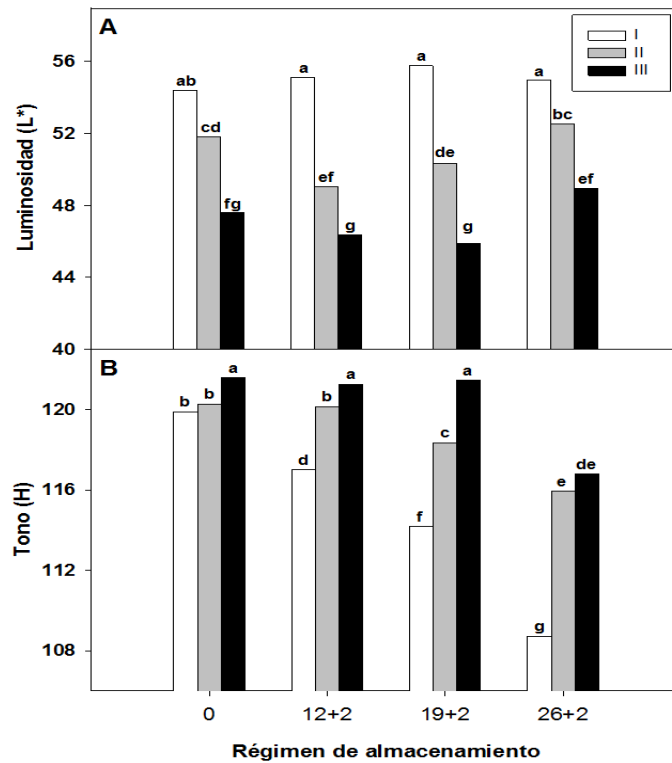


Figura 9. A) Luminosidad (L^*) y B) tono (H) de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III almacenados por 0, 12, 19 y 26 días a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y luego transferidos a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 2 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher ($P < 0,05$).

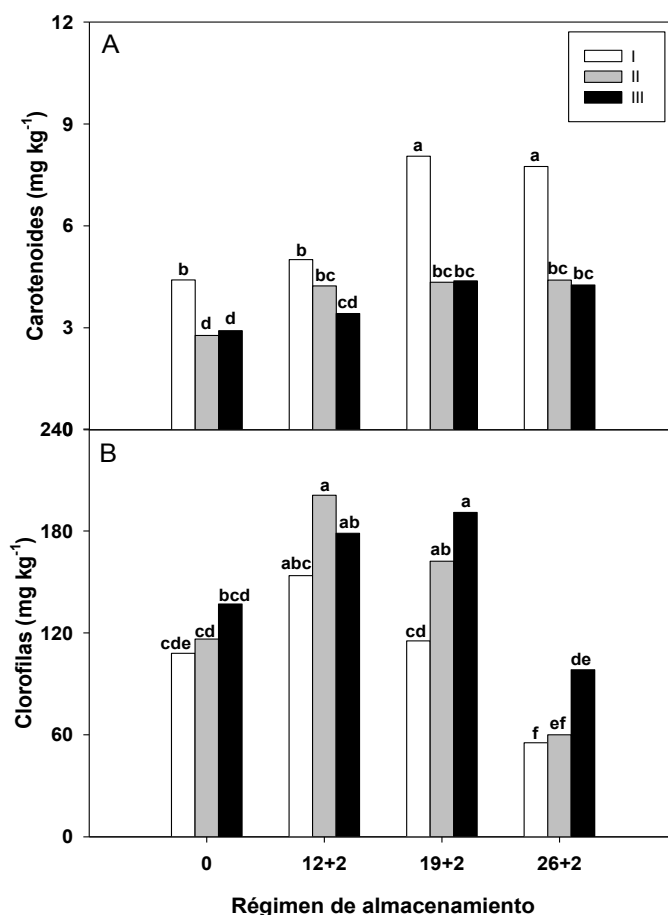


Figura 10. A) Contenido de carotenoides y de B) clorofilas de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III almacenados por 0, 12, 19 y 26 días a 5 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher ($P < 0,05$).

5.2.3. Capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos

La capacidad antioxidante total equivalente (TEAC) fue mayor en los zapallitos del estadio I que en los frutos II y III, desde la cosecha hasta el final del período de almacenamiento (Fig. 11 A). La capacidad antioxidante permaneció casi sin cambios en los frutos de todas las etapas de desarrollo, incluso después de 26+2 días, excepto para los del estadio III. Desde la cosecha, los frutos del estadio I tuvieron mayor concentración de fenoles que los frutos más desarrollados (Fig. 11 B). El almacenamiento en frío a 5 °C más dos días a 20 °C indujo la acumulación de fenoles en los frutos del estadio I y, en menor medida, en los del estadio II. De igual modo, en un trabajo previo se informó una inducción de la biosíntesis de fenoles en zapallito almacenado a baja temperatura (Massolo, 2015). En general, el contenido de fenoles mostró una tendencia similar a la encontrada en antioxidantes totales, lo que indica que este es el principal grupo de antioxidantes hidrófilos en zapallito de verano. La disminución del contenido de fenoles observada después del día 19+2 en los frutos del estadio III podría ser el resultado de la polimerización fenólica y deposición requerida

para la formación de corteza, ya que no se observó una superficie apreciable o pardeamiento interno relacionado con la actividad polifenol oxidasa (PPO) después del corte (datos no mostrados).

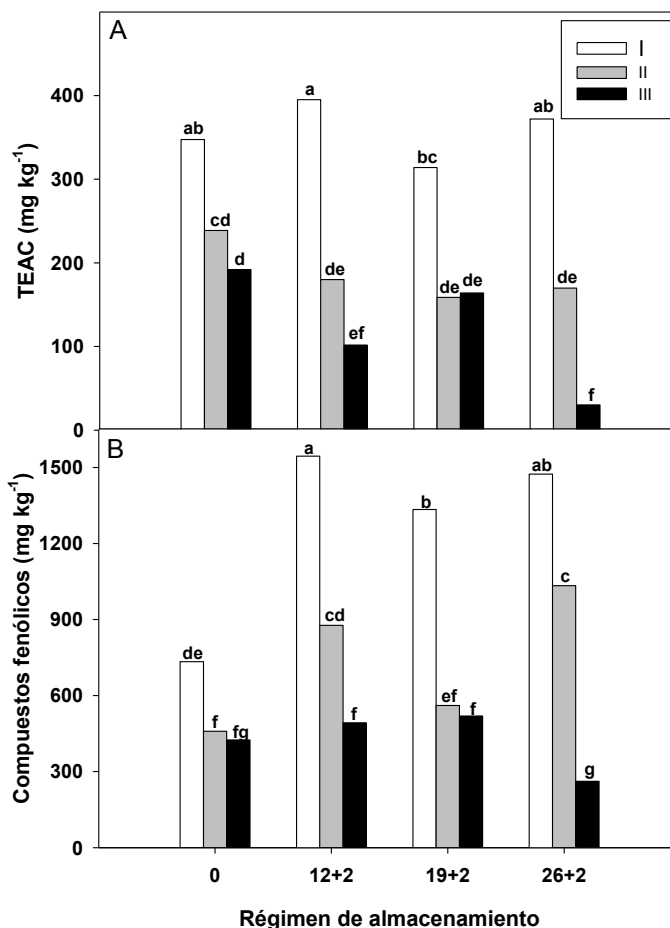


Figura 11. (A) Capacidad antioxidante (TEAC) y (B) contenido de compuestos fenólicos de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III almacenados por 0, 12, 19 y 26 días a 5 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher ($P < 0,05$).

5.2.4. Deformación a la ruptura (DR)

En la cosecha, la distancia a la ruptura (DR) resultó ser similar para cada estado de madurez (Fig. 12). Sin embargo, se observó un comportamiento contrastante entre los estadios de desarrollo durante el almacenamiento. Los cambios en la textura de la fruta pueden involucrar diversos procesos físicos, fisiológicos y bioquímicos, como la pérdida de agua (Zhang y col., 1996; Díaz-Pérez y col., 2007), la disminución de la presión de turgencia (Shackel y col., 1991), los cambios en la adhesión celular (Jarvis y col., 2003) y la desorganización de la pared celular (Brummel, 2006; Saladié y col., 2007). En la corteza de los frutos, la deposición de polisacáridos de

pared celular y de lignina también puede ser importante. En este trabajo, se encontró un ablandamiento marcado y continuo en los frutos del estadio I durante el almacenamiento, evidenciado por un aumento de la DR. Para esta etapa de madurez, la DR en los zapallitos mostró una mejor correlación con la evaluación de la textura sensorial (al tacto) que con pruebas de fuerza máxima de compresión (dureza) (datos no mostrados). La falta de buena asociación entre la dureza y la textura sensorial también se ha informado en otros frutos como los arándanos (**Marshall y Spiers, 2008**). Los zapallitos de los estadios II y III no mostraron variaciones en la DR durante 19 días, mientras que la firmeza aumentó en este período (datos no mostrados). Esto probablemente se relacionó con la formación de corteza como ocurre en zapallo butternut (*Cucurbita moschata*) y calabazas (*Cucurbita maxima*). Trabajos previos en zapallitos de estadio III mostraron una pérdida de firmeza durante el almacenamiento. Esto se correlacionó con el recambio de pectina y se atenuó con aplicaciones de citoquininas (**Massolo, 2015**). En este trabajo, la reducción de la firmeza se observó solo después de un almacenamiento prolongado.

Finalmente, los frutos de los estadios II y III se ablandaron, pero solo en el último día de muestreo evaluado. En general, los resultados del presente trabajo sugieren que las pérdidas de textura son mayores en los zapallitos “baby” que en los de los estadios II y III, y ello podría estar relacionado con la pérdida de agua. El cambio en la firmeza en los zapallitos de estadios II y III puede estar gobernado tanto por el endurecimiento de la piel como por la degradación de la pared celular, siendo el último más importante al final del almacenamiento.

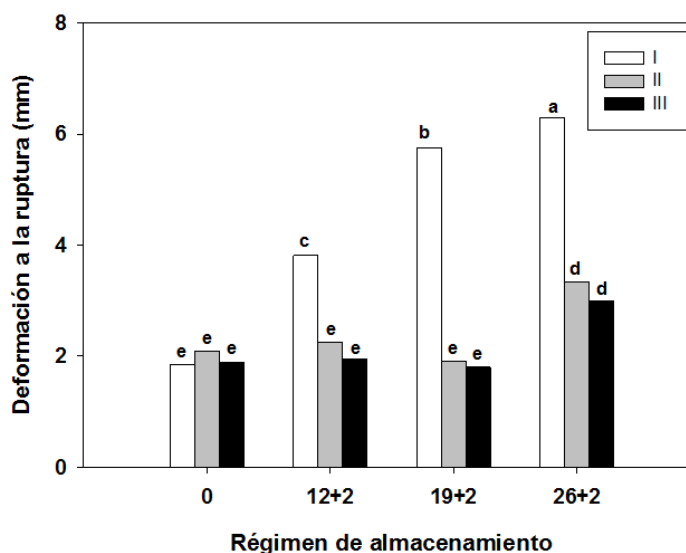


Figura 12. Distancia de ruptura de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III almacenados por 0, 12, 19 y 26 días a 5 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher ($P < 0,05$).

5.2.5. Pérdida de peso y tasa respiratoria

La pérdida de peso (Fig. 13 A) aumentó a lo largo del almacenamiento llegando casi a un 10% en frutos “baby” hacia el final del almacenamiento (día 26+2), mientras que para los estadios II y III ésta resultó ser alrededor de la mitad. La deshidratación fue más marcada en los zapallitos más pequeños por su mayor relación superficie/volumen (como se observó a 0 °C). De todos modos, es esperable que en estadios más tempranos el desarrollo de la cutícula sea incompleto, lo que podría reducir la resistencia a la pérdida de vapor de agua (Brew y col., 2006) y/o exudación. Con respecto a la tasa respiratoria, al comenzar el almacenamiento, los frutos del estadio I presentaron un mayor valor en comparación con los más avanzados en desarrollo (Fig. 13 B). Este resultado podría vincularse a la menor vida poscosecha de los zapallitos “baby” respecto de los frutos más desarrollados. Ambos parámetros demuestran que el metabolismo fue más acelerado en los frutos del estadio I respecto del II y III, los cuales tuvieron un comportamiento similar entre sí.

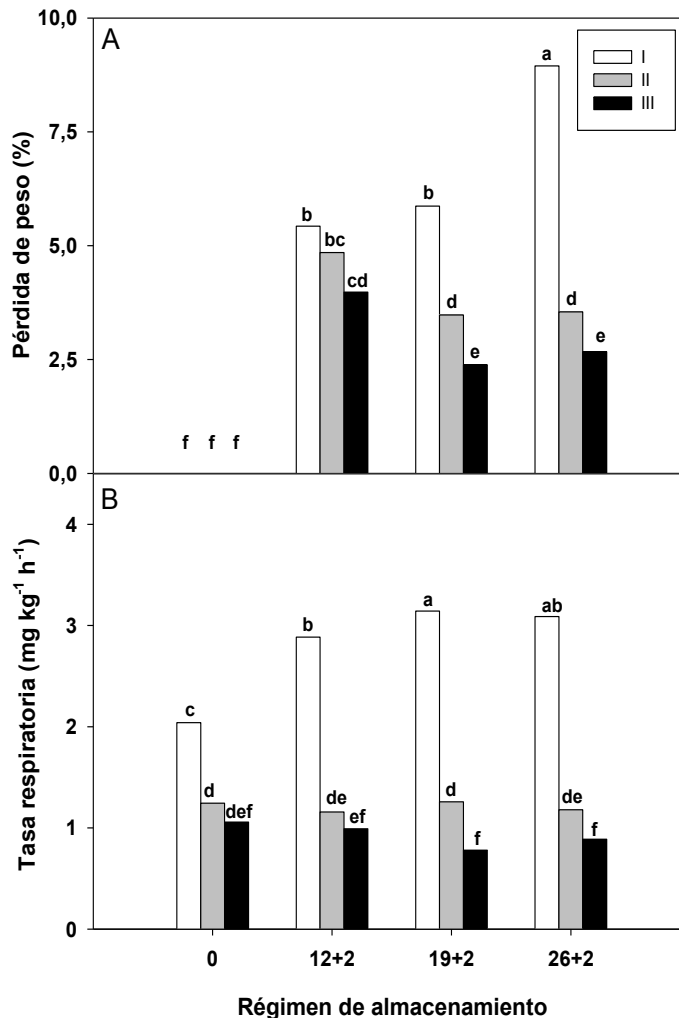


Figura 13. A) Pérdida de peso y B) tasa respiratoria de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III almacenados por 0, 12, 19 y 26 días a 5 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher ($P < 0,05$).

5.2.6. Acidez

La acidez se vio marcadamente afectada tanto por la etapa de maduración de la fruta como por el tiempo de almacenamiento. De acuerdo con lo que ocurre en la mayoría de los frutos (**Nunes y col., 2006**), la acidez fue más alta en zapallitos menos desarrollados (Fig. 14). Durante el almacenamiento, se observó un aumento de la acidez en los frutos de todos los estadios de desarrollo, especialmente en los zapallitos “baby”, con una acidez 2 veces mayor hacia el final del almacenamiento. En este momento de la vida poscosecha del fruto, la presencia de procesos fermentativos debido al ataque microbiano (sobre todo en los frutos pequeños más susceptibles al deterioro), podría ser un factor contribuyente a la acidez final (**Tournas, 2005**). Por otra parte, el aumento de la acidez también puede ser el resultado de la acumulación de intermediarios del ciclo de Krebs (sucesión de reacciones químicas que forman parte del proceso respiratorio), especialmente en frutos en los cuales las bajas

temperaturas pueden afectar el metabolismo normal de glúcidos, aminoácidos o ácidos grasos hasta cierto punto.

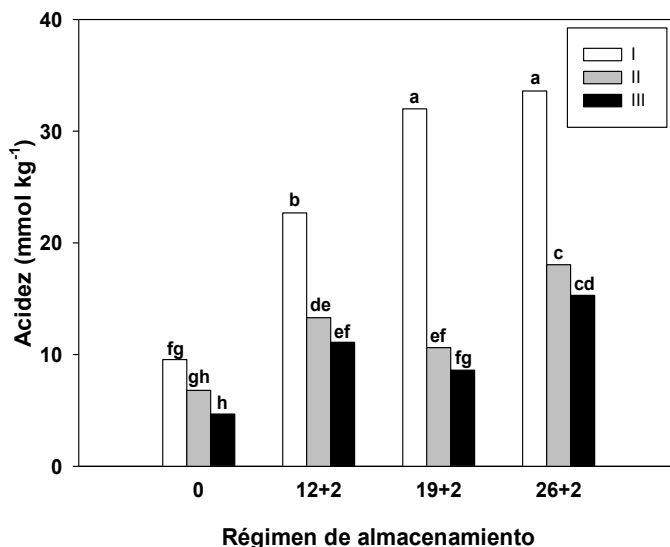


Figura 14. Acidez de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III almacenados por 0, 12, 19 y 26 días a 5 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher ($P < 0,05$).

5.2.7. Sólidos solubles y azúcares totales

Si bien el contenido de sólidos solubles se incrementó durante el almacenamiento, en líneas generales éste no presentó diferencias de importancia entre los estadios de desarrollo (Tabla 4). Por otro lado, el contenido de azúcares totales prácticamente no difirió entre los estadios de desarrollo durante el almacenamiento y si bien al día 26+2 los frutos de desarrollo comercial tradicional (estadio III) presentaron un mayor nivel de azúcares que los menos desarrollados, ello no se considera decisivo por tratarse del último día de almacenamiento.

Tabla 4. Contenido de sólidos solubles y de azúcares totales de zapallitos en estadios de desarrollo I, II y III almacenados por 0, 12, 19 y 26 días a 5 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher ($P < 0,05$).

Estado de desarrollo		Régimen de almacenamiento			
		0	12+2	19+2	26+2
Sólidos solubles (%)	I	6,5 ^{bcd}	7,3 ^{abc}	7,9 ^{ab}	9,0 ^a
	II	5,5 ^d	7,6 ^{abc}	8,2 ^a	7,2 ^{abc}
	III	6,3 ^{cd}	6,2 ^{cd}	6,5 ^{bcd}	8,1 ^a
Azúcares totales (g kg⁻¹)	I	34 ^{abc}	46 ^{ab}	28 ^{bc}	27 ^c
	II	39 ^{abc}	47 ^{ab}	43 ^{abc}	30 ^{bc}
	III	35 ^{abc}	43 ^{abc}	40 ^{abc}	48 ^a

6. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se realizó una caracterización fisicoquímica de los frutos de zapallito redondo en diferentes estadios de desarrollo y se caracterizaron algunas respuestas inexploradas de los mismos al almacenamiento bajo condiciones predisponentes de daño por frío y de refrigeración a temperatura óptima. La maduración se desarrolló sin grandes cambios en la firmeza y azúcares. Se observó una disminución progresiva de la respiración y la acidez con un incremento de la coloración verde en la superficie en los frutos de las últimas etapas del desarrollo (estadio III). Los zapallitos "Baby" fueron más ricos en contenido de antioxidantes y de compuestos carotenoides. Sin embargo, éstos presentaron una mayor actividad metabólica y fueron más susceptibles al amarilleamiento, ablandamiento, deshidratación y daño por frío que los frutos de los estadios II y III. Estos últimos dos grupos mostraron una menor diferencia en su composición y respuestas al almacenamiento poscosecha. La calidad de los frutos de los estadios I, II y III permaneció aceptable durante 12, 19 y 26 días a 5 °C más 2 días a 20 °C, respectivamente. Siendo que la composición y el comportamiento poscosecha de los zapallitos redondos cosechados en los estadios II y III fueron comparables en términos generales, desde el punto de vista comercial los frutos podrían cosecharse en el estadio de desarrollo intermedio (II) para ganar tiempo en la venta del producto.

AGRADECIMIENTOS

Al CONICET (PIP-0098) y a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 2015-3690) por el financiamiento del trabajo y a Ariel Vicente, por su apreciable apoyo.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÀFICAS

- Abbott JA y Massie DR. 1985. Delayed light emission for early detection of chilling in cucumber and bell pepper fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. Vol. 110(1). 42-47.
- Abbott J A, Miller AR y Campbell TA. 1991. Detection of mechanical injury and physiological breakdown of cucumbers using delayed light emission. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 116(1). 52-57.
- Abe K. 1990. Ultrastructural changes during chilling stress. CY Wang. *Chilling Injury of Horticultural Crops*. CRC Press Inc. Boca Raton. USA. 71-84.
- Abe K y Ogata K. 1978. Chilling injury in eggplant fruits. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 47(1). 111-120.
- Aharoni N, Rodov V, Fallik E, Porat R, Pesis E y Lurie S. 2007. Controlling humidity improves efficacy of modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. In *Europe-Asia Symposium on Quality Management in Postharvest Systems-Eurasia*. 804. 121-128.
- Aggie Horticulture: Baby Vegetables. Disponible en: <<http://aggie-horticulture.tamu.edu/archives/parsons/publications/specveg.html>>. Último acceso: 5 de abril de 2017.
- Al-Ati T y Hotchkiss JH. 2003. The role of packaging film permselectivity in modified atmosphere packaging. *Journal of agricultural and food chemistry*. 51(14). 4133-4138.
- Albertini MV, Carcouet E, Pailly O, Gambotti C, Luro F y Berti L. 2006. Changes in organic acids and sugars during early stages of development of acidic and acidless citrus fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54. 8335-8339.
- Andersen CR y Kent MW. 1982. Storage of cucumber fruit at chilling temperatures. *HortScience*. 17(3). 527-527.
- AOAC. 1980. *Official Methods of Analysis*. 13th ed. Association of Official Analytical.
- Arnao MB, Cano A y Acosta M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*. 73. 239-244.
- Bachmann J. 2002. *Specialty Vegetables. Appropriate Technology Transfer for Rural Areas (ATTRA)*. National Sustainable Agriculture Information Service. 1-7.
- Bermejo A y Cano A. 2012. Analysis of nutritional constituents in twenty citrus cultivars from the mediterranean area at different stages of ripening. *Food and Nutrition Sciences*. 3. 639-650.
- Blankenship SM y Dole JM. 2003. 1-Methylcyclopropene: a review. *Postharvest Biology and Technology*. 28. 1-25.
- Boonsiri K, Ketsa S y Doorn WGV. 2007. Seed browning of hot peppers during low temperature storage. *Postharvest Biology and Technology*. 45. 358-365.

- Brew BS, Berry AD, Sargent SA, Shaw NL y Cantliffe DJ. 2006. Determination of optimum storage conditions for baby summer squash fruit (*Cucurbita pepo*). University of Florida, Horticultural Science Department. Proceedings of the Florida State Horticultural Society. 119. 343-346.
- Brummell DA. 2006. Cell wall disassembly in ripening fruit. Functional Plant Biology. 33(2). 103-119.
- Büchert AM, Civello PM y Martínez GA. 2011. Characterization of Mg-dechelating substance in senescent and pre-senescent *Arabidopsis thaliana* leaves. *Biologia plantarum*. 55(1). 75-82.
- Carafoli Carafoli E y Penniston JT. 1985. The calcium signal. *Scientific American*. 253(5). 70-78.
- Carvajal F, Palma F, Jamilena M y Garrido D. 2015. Cell wall metabolism and chilling injury during postharvest cold storage in zucchini fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 108. 68-77.
- Chen HH, Li PH y Brenner ML. 1983. Involvement of abscisic acid in potato cold acclimation. *Plant physiology*. 71(2). 362-365.
- Clarkson GJ, Rothwell SD y Taylor G. 2005. End of day harvest extends shelf life. *HortScience*. 40(5). 1431-1435.
- Concellón A, Añón MC y Chaves AR. 2007. Effect of low temperature storage on physical and physiological characteristics of eggplant fruit (*Solanum melongena* L.). *LWT-Food Science and Technology*. 40(3). 389-396.
- Corrales-Bernal A, Vergara AI, Rojano B, Yahia E y Maldonado ME. 2015. Nutritional and antioxidant properties of Colombian cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) under three stages of maturation. *Archivos latinoamericanos de nutrición*. 54(4).
- Costa ML, Civello PM, Chaves AR y Martínez GA. 2005. Effect of ethephon and 6-benzylaminopurine on chlorophyll degrading enzymes and a peroxidase-linked chlorophyll bleaching during post-harvest senescence of broccoli (*Brassica oleracea* L.) at 20 C. *Postharvest Biology and Technology*. 35(2). 191-199.
- Davies JN y Kempton RJ. 1976. Some changes in the composition of the fruit of the glasshouse cucumber (*Cucumis sativus*) during growth, maturation and senescence. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 27(5). 413-418.
- De Grazia J, Tittonell PA, Perniola OS, Caruso AC y Chiesa A. 2003. Precocidad y rendimiento en Zapallito Redondo del Tronco (*Cucurbita maxima* var. Zapallito (Carr.) Millán) en función de la relación nitrógeno:potasio. *Agricultura Técnica*. 63. 428-435.
- Deepa N, Kaur C, George B, Singh B y Kapoor HC. 2007. Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes during maturity. *LWT- Food Science and Technology*. 40. 121-129.

- Dhindsa RS, Plumb-Dhindsa P y Thorpe TA. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*. 32(1). 93-101.
- Díaz-Pérez JC, Muy-Rangel MD y Mascorro AG. 2007. Fruit size and stage of ripeness affect postharvest water loss in bell pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 87(1). 68-73.
- Ding Y, Sheng J, Li S, Nie Y, Zhao J, Zhu Z y Tang X. 2015. The role of gibberellins in the mitigation of chilling injury in cherry tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 101. 88-95.
- Faostat. 2014. Fecha de consulta, diciembre de 2014. Última actualización: agosto de 2014. En: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>
- Ferguson IB, Ben-Yehoshua S, Mitcham EJ, McDonald RE y Lurie S. 2000. Postharvest heat treatments: introduction and workshop summary. *Postharvest Biology and Technology*. 21. 1-6.
- Fonseca S, Monteiro L, Barreiro MG y Pais MS. 2005. Expression of genes encoding cell wall modifying enzymes is induced by cold storage and reflects changes in pear fruit texture. *Journal of Experimental Botany*. 56(418). 2029-2036.
- Fukushima T y Tsugiyama T 1977. Chilling-injury in cucumber fruits. II. Chemical analyses of leakage substances and anatomical observation of symptoms. *Scientia Horticulturae*. 6(3). 199-206.
- Funamoto Y, Yamauchi N, Shigenaga T y Shigyo M. 2002. Effects of heat treatment on chlorophyll degrading enzymes in stored broccoli (*Brassica oleracea* L.). *Postharvest Biology and Technology*. 24(2). 163-170.
- Galani JH, Patel JS, Patel NJ y Talati JG. 2017. Storage of Fruits and Vegetables in Refrigerator Increases their Phenolic Acids but Decreases the Total Phenolics, Anthocyanins and Vitamin C with Subsequent Loss of their Antioxidant Capacity. *Antioxidants*. 6(3). 59.
- Galindo FG, Herppich W, Gekas V y Sjöholm I. 2004. Factors affecting quality and postharvest properties of vegetables: Integration of water relations and metabolism. *Critical reviews in food science and nutrition*. 44(3). 139-154.
- Gan S y Amasino RM. 1997. Making sense of senescence (molecular genetic regulation and manipulation of leaf senescence). *Plant physiology*. 113(2). 313.
- Gong Y y Mattheis JP. 2003. Effect of ethylene and 1-methylcyclopropene on chlorophyll catabolism of broccoli florets. *Plant Growth regulation*. 40. 33-38.

- Hasperué JH, Chaves AR y Martínez GA. 2011. End of day harvest delays postharvest senescence of broccoli florets. *Postharvest biology and technology*. 59(1). 64-70.
- Heredia A, Peinado I, Barrera C, Grau AA. 2009. Influence of process variables on colour changes, carotenoids retention and cellular tissue alteration of cherry tomato during osmotic dehydration. *Journal of Food Composition and Analysis*. 22, 285-294.
- Hörtensteiner S. 2006. Chlorophyll degradation during senescence. *The Annual Review of Plant Biology*. 57. 55–77.
- Hurr BM, Huber DJ, Vallejos CE y Talcott ST. 2009. Developmentally dependent responses of detached cucumber (*Cucumis sativus* L.) fruit to exogenous ethylene. *Postharvest Biology and Technology*. 52. 207-215.
- INDEC (Instituto Nacional de Estadística y Censos). Censo nacional agropecuario 2002 (CNA 02). Fecha de consulta, noviembre de 2014. Última actualización: abril de 2005. En: http://www.indec.mecon.gov.ar/agropecuaria/cna_defini2.asp
- Jackman RL, Yada RY, Marangoni A, Parkin KL y Stanley DW. 1988. Chilling injury. A review of quality aspects. *Journal of food quality*. 11(4). 253-278.
- Jarvis MC, Briggs SPH y Knox JP. 2003. Intercellular adhesion and cell separation in plants. *Plant, Cell y Environment*. 26(7). 977-989.
- Jones RB, Faragher JD y Winkler S. 2006. A review of the influence of postharvest treatments on quality and glucosinolate content in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) heads. *Postharvest Biology and Technology*. 41(1). 1-8.
- Kamol SI, Howlader J, Sutra Dhar GC y Aklimuzzaman M. 2014. Effect of different stages of maturity and postharvest treatments on quality and storability of pineapple. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*. 12. 251-260.
- Kilcher MR. 1981. Plant development, stage of maturity and nutrient composition. *Journal of Range Management Archives*. 34. 363-364.
- Lichtenthaler HK. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods of Enzymology*. 148. 350–382.
- Lyons JM. 1973. Chilling injury in plants. *Annual review of plant physiology*. 24(1). 445-466.
- Marangoni AG, Palma T y Stanley DW. 1996. Membrane effects in postharvest physiology. *Postharvest Biology and Technology*. 7(3). 193-217.
- Marshall DA y Spiers JM. 2008. Establishment of rabbiteye blueberries using poultry litter. In IX International Vaccinium Symposium. 810. 723-728.
- Massolo JF. 2015. Evaluación del uso de reguladores vegetales y de estrategias de procesamiento para reducir el deterioro post-cosecha de zapallitos. Tesis doctoral. Páginas 184.

- Massolo JF, Concellón A, Chaves AR y Vicente AR. 2011. 1-Methylcyclopropene (1-MCP) delays senescence, maintains quality and reduces browning of non-climacteric eggplant (*Solanum melongena* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 59(1). 10-15.
- Massolo JF, Concellón A, Chaves AR y Vicente AR. 2013. Use of 1-methylcyclopropene to complement refrigeration and ameliorate chilling injury symptoms in summer squash. *CyTA-Journal of Food*. 11(1). 19-26.
- Matile P, Hörtensteiner S y Thomas H. 1999. Chlorophyll degradation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular*. 50. 67-95
- McGuire RG. 1992. Reporting of objective color measurements. *Horticultural Science*. 27. 1254-1255.
- Melissa's. Disponible en: <<https://www.melissas.com/Baby-Vegetables-s/2226.htm?searching=Yysort=7ycat=2226yshow=15ypage=3>>. Último acceso: 11 de febrero de 2017.
- Mencarelli F, Lipton WJ y Peterson SJ. 1983. Responses of 'zucchini' squash to storage in low-O₂ atmospheres at chilling and nonchilling temperatures. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 108. 884.
- Millán R. 1945. Variaciones del zapallito amargo (*Cucurbita andreana*) y el origen de (*Cucurbita maxima*). *Revista Argentina de Agronomía*. 12. 86-93.
- Millán R. 1947. Los zapallitos de tronco de Sudamérica extratropical. *Darwiniana*. 7. 333-345.
- Minorsky PV. 1985. An heuristic hypothesis of chilling injury in plants: a role for calcium as the primary physiological transducer of injury. *Plant, Cell y Environment*. 8. 75-94.
- Mohammed M y Brecht JK. 2002. Reduction of chilling injury in (Tommy Atkins) mangoes during ripening. *Scientia Horticulturae*. 95. 297-308.
- Molinar R, Aguiar J, Gaskell M y Mayberry K. 1999. *Summer Squash Production in California*. UCANR Publications.
- Murata T, en "Chilling Injury of Horticultural Crops" (C. Y. Wang, ed.), CRC Press, Boca Raton, FL, 1989.
- Norman HA, McMillan C y Thompson Jr G A. 1984. Phosphatidylglycerol molecular species in chilling-sensitive and chilling-resistant populations of (*Avicennia germinans* (L.) L.). *Plant and cell physiology*. 25(8). 1437-1444.
- Nunes MCN, Brecht JK, Morais AM y Sargent SA. 2006. Physicochemical changes during strawberry development in the field compared with those that occur in harvested fruit during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86(2). 180-190.

- Obrero A, Gonzalez-Vermejo CI, Die JV, Gómez P, Del Río Celestino M y Román B. 2013. Carotenogenic gene expression and carotenoid accumulation in three varieties of *Cucurbita pepo* during fruit development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61. 6393–6403.
- O'Donohue EM, Someruelde SD, De Vré LA y Heyes JA. 1997. Developmental and ripening-related effects on the cell wall of pepino (*Solanum muricatum*) fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 73. 455–463.
- Olorunda AO y Macklon AE. 1976. Effects of storage at chilling temperature on ion absorption, salt retention capacity and respiratory pattern in yam tubers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 27(5). 405-412.
- Pantastico EB, Grierson W y Soule J. 1967. Chilling injury in tropical fruits: I. Bananas (*Musa paradisiaca* var. Sapientum cv. Lacatan). *Proceedings of the Tropical Region American Society for Horticultural Science*. 11. 82-91.
- Parkin KL, Marangoni A, Jackman RL, Yada RY y Stanley DW. 1989. Chilling injury. A review of possible mechanisms. *Journal of Food Biochemistry*. 13(2). 127-153.
- Patterson BD y Reid MS, in "Chilling Injury of Horticultural Crops" (C. Y. Wang,ed.), CRC Press, Boca Raton, FL, 1989.
- Paull RE. 1981. Temperature-induced leakage from chilling-sensitive and chilling-resistant plants. *Plant physiology*. 68(1). 149-153.
- Pesis E, Aharoni D, Aharon Z, Ben-Arie R, Aharoni N y Fuchs Y. 2000. Modified atmosphere and modified humidity packaging alleviates chilling injury symptoms in mango fruit. *Postharvest biology and technology*. 19(1). 93-101.
- Pogson BJ, Downs CG y Davies KM, 1995. Differential expression of two 1-aminocyclopropane-l-carboxylic acid oxidase genes in broccoli after harvest. *Plant Physiology*. 108. 651-657.
- Purvis AC y Rice JD. 1983. Low temperature induction of invertase activity in grapefruit flavedo tissue. *Phytochemistry*. 22(4). 831-834.
- Quinn PJ. 1985. A lipid-phase separation model of low-temperature damage to biological membranes. *Cryobiol*. 22. 128-146.
- Raison JK, Lyons JM, Mehlhorn RJ y Keith AD. 1971. Temperature-induced phase changes in mitochondrial membranes detected by spin labeling. *Journal of Biological Chemistry*. 246(12). 4036-4040.
- Rahman MM, Moniruzzaman M, Ahmad MR, Sarker BC y Alam MK. 2016. Maturity stages affect the postharvest quality and shelf-life of fruits of strawberry genotypes growing in subtropical regions. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 15. 28-37.

- Rodriguez-Aguilera R y Oliveira JC. 2009. Review of design engineering methods and applications of active and modified atmosphere packaging systems. *Food Engineering Reviews*. 1(1). 66-83.
- Saladié M, Matas AJ, Isaacson T, Jenks MA, Goodwin SM, Niklas KJ y Lytovchenko A. 2007. A reevaluation of the key factors that influence tomato fruit softening and integrity. *Plant Physiology*. 144(2). 1012-1028.
- Saltveit ME. 2011. Melon (*Cucumis melo* L.). Woodhead Publishing Limited. 2. 32- 45.
- Shackel KA, Greve C, Labavitch JM y Ahmadi H. 1991. Cell turgor changes associated with ripening in tomato pericarp tissue. *Plant Physiology*. 97(2). 814-816.
- Shaw NL y Cantliffe DJ. 2005. Hydroponic greenhouse production of "baby" squash: selection of suitable squash types and cultivars. *HortTechnology*. 15(3). 722-728.
- Singleton VL, Orthofer R y Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299. 152-179.
- Sisler EC y Serek M. 2003. Compounds interacting with the ethylene receptor in plants. *Plant Biology*. 5. 473-80.
- Suslow TV y Cantwell M. 2013a. Cucumber: recommendations for maintaining postharvest quality. Última actualización: 7 de noviembre, 2013.
- Suslow TV y Cantwell M. 2013b. Squash (soft rind): recommendations for maintaining postharvest quality. Última actualización: 6 de junio, 2013.
- Thomas H y Donnison I. 2000. Back from the brink: plant senescence and its reversibility. In *Symposia of the Society for Experimental Biology*. 52. 149.
- Thompson JE, Froese CD, Madey E, Smith MD y Hong Y. 1998. Lipid metabolism during plant senescence. *Progress in Lipid Research*. 37. 119-141.
- Tian M, Talebul Islam, Stevenson D y Irving D. 1997. Color, ethylene production, respiration, and compositional changes in broccoli dipped in hot water. *Journal of the American Society for the Horticultural Sciences*. 122. 112-116
- Tournas VH. 2005. Spoilage of vegetable crops by bacteria and fungi and related health hazards. *Critical Reviews in Microbiology*. 31. 33-44.
- USDA (United States Department of Agriculture) Nutrition Data Base. Fecha de consulta: enero de 2015. En: <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2968>
- Wang CY y Baker JE. 1979. Effects of two free radical scavengers and intermittent warming on chilling injury and polar lipid composition of cucumber and sweet pepper fruits. *Plant and Cell Physiology*. 20(1). 243-251.
- Wang CY y Adams DO. 1982. Chilling-induced ethylene production in cucumbers (*Cucumis sativus* L.). *Plant Physiology*. 69(2). 424-427.

- Wang CY. 1989. Chilling injury of fruits and vegetables. *Food reviews international*. 5(2). 209-236.
- Wang KLC, Li H y Ecker JR. 2002. Ethylene biosynthesis and signaling networks. *Plant Cell*. 14, 131-151.
- Watkins CB. 2006. The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. *Biotechnology advances*. 24(4). 389-409.
- Wilson JM. 1985. The economic importance of chilling injury. *Outlook on Agriculture*. 14(4). 197-203.
- Wurr DCE, Hambidge AJ, Fellows JR, Lynn JR y Pink DAC. 2002. The influence of water stress during crop growth on the postharvest quality of broccoli. *Postharvest Biology and Technology*. 25. 193-198.
- Yemm EW y Willis AJ. 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemical Journal*. 57. 508–514.
- Zaicovski CB, Zimmerman T, Nora L, Roos Nora F, Silva JA y Rombaldi CV. 2008. Water stress increases cytokinin biosynthesis and delays postharvest yellowing of broccoli florets. *Postharvest Biology and Technology*. 49. 436-439.
- Zaro MJ, Keunchkarian S, Chaves AR, Vicente AR y Concellón A. 2014. Changes in bioactive compounds and response to postharvest storage conditions in purple eggplants as affected by fruit developmental stage. *Postharvest Biology and Technology*. 96. 110-117.
- Zhang LX, Li PH y Tseng MJ. 1987. Amelioration of chilling injury in rice seedlings by mefluidide. *Crop science*. 27(3). 531-534.
- Zhang X, Brusewitz GH y Puchalski C. 1996. Postharvest peach weight loss, water content, and outer layer firmness. *International agrophysics*. 10. 139-143.