

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA
GRADO EN INGENIERIA AGROALIMENTARIA Y AGROAMBIENTAL



UNIVERSITAS
Miguel Hernández

Efecto de distintos tratamientos poscosecha sobre la
conservación y los daños por frío de calabacín
(*Cucurbita pepo* spp *pepo*)

UNIVERSITAS
Miguel Hernández

TRABAJO FIN DE GRADO

Febrero-2024

Autora: Carolina Domínguez Del Rosario

Tutores: Antonio Fabián Guillén Arco

Jorge Medina Santamarina

Resumen

Los calabacines son sensibles a las bajas temperaturas de almacenamiento, lo cual ocasiona daños por frío en estos frutos ocasionando pérdidas de calidad. Por ello se producen depresiones significativas en su piel, aumenta la pérdida de peso y los vuelve inviables para su comercialización. En este estudio, se analizó el impacto de distintos tratamientos poscosecha en calabacines variedad 'Cronos' para reducir los daños por frío (DF). Se comparó el efecto de sustancias utilizadas actualmente en la conservación de productos vegetales en fresco como el 1-metilciclopropeno (1-MCP) y un compuesto de origen natural como la melatonina, ambos con actividad comprobada en la disminución del DF en varios productos vegetales. Aunque los tratamientos aplicados de manera independiente mejoraron algunos parámetros de calidad de la fruta en comparación con las frutas control, no lograron controlar eficazmente el DF, a pesar de haber atenuado el impacto en varios aspectos. Sin embargo, cuando se combinaron estas dos estrategias por separado, se observó un aumento en la tolerancia al frío del calabacín. Este efecto sinérgico influyó en general en todos los parámetros, pero en especial en el DF preservando de forma efectiva estos productos vegetales. En este sentido, la combinación del 1-MCP y la melatonina podría constituir una herramienta adecuada para alcanzar estándares de alta calidad y prolongar la vida útil bajo condiciones de refrigeración.

Palabras clave: almacenamiento, calidad, daño por frío, 1-mcp, melatonina, senescencia.

Abstract

Zucchini are sensitive to low storage temperatures, resulting in cold damage that leads to quality losses. This causes significant depressions on their skin, increasing weight loss, reaching a low quality standard unsuitable for commercialization. In this study, the impact of several post-harvest treatments on 'Cronos' zucchini was examined to mitigate chilling injury (CI). The effects of substances commonly used for fresh vegetable products, such as 1-methylcyclopropene (1-MCP), were compared with a natural origin compound as melatonin. Both have been proven to reduce CI in several plant products. Results showed that independently applied treatments enhanced certain fruit quality parameters as compared to control fruit.

However these treatments did not effectively controlled CI, though the impact was reduced on various aspects. However, combining these separate strategies led to an increase in zucchini's cold tolerance. This synergistic effect influenced all parameters, particularly CI, effectively preserving these plant products. For this reason, the combination of 1-MCP and melatonin could serve as a suitable tool to achieve high-quality standards and extend shelf life under refrigerated conditions.

Keywords: chilling injury, 1-mcp, melatonin, quality, senescence, storage.



Índice

1	INTRODUCCIÓN	9
1.1	El Calabacín	9
1.1.1	Características botánicas.....	9
1.1.2	Origen.....	10
1.1.3	Taxonomía.....	10
1.1.4	Composición nutricional.....	11
1.1.5	Variades del calabacín.....	12
1.2	Producción e importancia económica	14
1.3	Parámetros de calidad y maduración del fruto	15
1.4	Problemática poscosecha	16
1.5	Daños por frío	17
1.6	Tecnologías empleadas en el mantenimiento de la calidad del calabacín	20
2	OBJETIVOS	25
3	MATERIAL Y MÉTODOS	26
3.1	Material Vegetal	26
3.2	Diseño experimental	28
3.3	Determinaciones analíticas	29
3.3.1	Pérdida de peso.....	29
3.3.2	Determinación de CO ₂ y Etileno.....	29
3.3.3	Evaluación de color.....	31
3.3.4	Determinación de la firmeza.....	32
3.3.5	Evaluación de los sólidos solubles totales (SST).....	32
3.3.6	Determinación de la fuga de electrolitos.....	33
3.3.7	Malondialdehido.....	34
3.3.8	Daños por frío.....	34
3.3.9	Análisis estadístico.....	35
4	Resultados y discusiones	36
4.1	Pérdidas de peso	36
4.2	Producción de CO₂ y Etileno	37
4.3	Color	38
4.4	Solidos solubles totales	39
4.5	Acidez	41

4.6	Firmeza.....	42
4.7	Evolución de la fuga de electrolitos y contenido en MDA.....	43
4.8	Efecto sobre los daños por frio.....	44
5	Conclusiones.....	45
6	Bibliografía.....	46
6.1	Referencias.....	46
6.2	Páginas web consultadas.....	53

INDICE DE TABLAS

Tabla1.	Valor nutricional Calabacín en 100g.....	12
Tabla2.	Variedades calabacín.....	13
Tabla3.	Síntomas de daños por frio.....	19
Tabla4.	Tecnología poscosecha Física 1.....	21
Tabla5.	Tecnología poscosecha física 2.....	22
Tabla6.	Tecnología poscosecha Química 1.....	23
Tabla7.	Tecnología poscosecha Química 2.....	24

INDICE DE FIGURAS

<i>Figura1. Evolución de la superficie de producción de calabacín entre 2016/2022. Fuente: MAPAMA (2023).</i>	14
<i>Figura2. Depresiones observables en la piel de los calabacines durante el almacenamiento a 4 °C.</i>	18
<i>Figura3. Materia prima Calabacín.</i>	27
<i>Figura4. Pesado Calabacín.</i>	29
<i>Figura5. Prueba CO2 y Etileno</i>	30
<i>Figura6. Prueba colorimetría.</i>	31
<i>Figura7. Prueba Firmeza.</i>	32
<i>Figura8. Prueba SST.</i>	33
<i>Figura9. Prueba electrolitos y MDA</i>	34
<i>Figura10. Evaluación daños por frio.</i>	35
<i>Figura11. Evolución de la perdida de peso (%) en los calabacines control y tratado con las diferentes dosis de 1-MCP y MT tras el almacenamiento a 4 °C más 2 días a 20 °C.</i>	36
<i>Figura12. Respiración (mg CO2 kg⁻¹ h⁻¹) (A) y producción de etileno (nL g⁻¹ h⁻¹) (B) de calabacines 'Cronos' tratados con melatonina a 1 mM (MT) o agua destilada (Control), con o sin 1-MCP, durante el almacenamiento refrigerado más 2 días a 20 °C. Los datos son la media ± ES (n = 3). Letras minúsculas diferentes muestran diferencias significativas (p < 0.05) entre los tratamientos para cada fecha de muestreo.</i>	37
<i>Figura13. Evolución del ángulo CIE Hue* en calabacines 'Cronos' tratados con melatonina 1 mM (MT) o agua destilada (Control), con o sin 1-MCP, durante el almacenamiento refrigerado más 2 días a 20 °C. Los datos son la media ± ES (n = 3). Letras minúsculas diferentes muestran diferencias significativas (p < 0.05) entre los tratamientos para cada fecha de muestreo.</i>	39

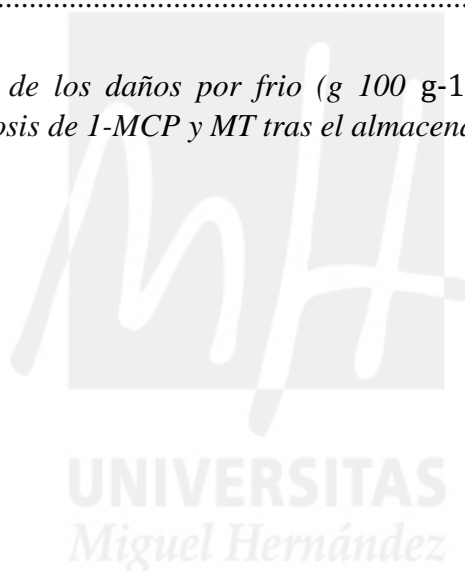
Figura14. Evolución del contenido en Brix (%) en calabacines control y tratados con distintas dosis de 1-MCP y MT tras el almacenamiento a 4 °C más dos días a 20 °C. . 40

Figura15. Evolución de la acidez titulable (g 100 g-1) en calabacines control y tratados con distintas dosis de 1-MCP y MT tras el almacenamiento a 4 °C más dos días a 20 °C. 41

Figura16. Evolución de la firmeza (N) en calabacines 'Cronos' tratados con melatonina 1 mM (MT) o agua destilada (Control), con o sin 1-MCP, durante el almacenamiento refrigerado más 2 días a 20 °C. Los datos son la media \pm ES (n = 3). Letras minúsculas diferentes muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos para cada fecha de muestreo. 42

Figura17. Evolución de malondialdehído (MDA) y fuga de electrolitos en calabacines control y tratados con distintas dosis de 1-MCP y MT tras el almacenamiento a 4 °C más dos días a 20 °C. 43

Figura18. Evolución de los daños por frío (g 100 g-1) en calabacines control y tratados con distintas dosis de 1-MCP y MT tras el almacenamiento 4 °C más dos días a 20 °C. 44



1 INTRODUCCIÓN

1.1 El Calabacín

1.1.1 Características botánicas

EL calabacín (*Cucurbita pepo* spp. *pepo*), es una planta herbácea, anual y de porte rastrero. El tallo es cilíndrico, asurcado, áspero, grueso y con entrenudos cortos. Botánicamente hablando es considerado una fruta, pero comercialmente se oferta como una hortaliza anual que se difunde a nivel mundial. Pertenece a la familia de las cucurbitáceas que comprenden más de 850 especies de plantas, corresponde a la subespecie *pepo*, de porte rastrero con crecimiento indeterminado. Por otro lado, el calabacín es un fruto no climatérico que se recolecta inmaduro al alcanzar 18 cm de longitud.

Este, está constituido por una raíz principal de la que parten las raíces secundarias. Su desarrollo radicular depende del sistema de cultivo, siendo superficial en suelos enarenados, comprendiendo entre 25 y 30 cm de profundidad. Sin embargo, en terrenos desnudos y cultivos no protegidos, es más profundo el desarrollo del sistema radicular, en un rango de 50 y 80 cm (Reche, 1997).

El tallo principal, áspero al tacto, cilíndrico, de superficie pelosa, grueso, con entrenudos cortos de donde parten hojas, flores, frutos y abundantes zarcillos a 10/20 cm de longitud, estos nacen junto al pedúnculo del fruto (Reche, 1997).

Las hojas son palmeadas, amplias y sostenidas por alargados peciolos. Los peciolos parten del tallo alternándose de forma helicoidal. Son largos, huecos, consistentes y espigas cortas y finas por todo su desarrollo. El limbo está constituido por cinco lóbulos, alcanzando como máximo 50 cm de ancho y largo (Reche, 1997).

La flor es grande, vistosa, solitaria, de color amarillo y acampanadas. La planta del calabacín es monoica, en consecuencia, se dan simultáneamente flores femeninas y masculinas. El pedúnculo largo característico de la flor masculina está ausente en la flor femenina, puesto que se unen directamente al tallo por un corto, reducido y grueso pedúnculo de sección pentagonal o hexagonal pero irregular (Delgado, 1999).

La formación de flores femeninas está relacionada con temperaturas bajas y días cortos, mientras que las altas temperaturas y la gran luminosidad son las causantes de que las flores masculinas se vean favorecidas en su formación. La polinización puede ser entomófila (abejas principalmente) o polinización cruzada. (Reche, 1997).

El fruto es una baya grande con pericarpio fuerte una vez está maduro, la placenta carnosa procedente de un ovario ínfero (Camacho, 2003). De las axilas de las hojas provienen los frutos, estando unido a un pedúnculo grueso y corto. Se cosechan aproximadamente a mitad de su desarrollo, inmaduros. (Reche, 1997).

Las semillas son de color blanco -amarillento, ovaladas, alargadas, puntiagudas en su extremidad, con un surco longitudinal paralelo al borde exterior, siendo: 1,5 cm de largas; 0,6-0,7 cm de anchas; 0,1-0,2 cm de gruesas, compuesta por una superficie lisa. (Reche, 1997).

1.1.2 Origen

La procedencia del calabacín no está del todo clara, pues se cree que tiene dos geocentros, puesto que ciertos autores como (Smith, 1997), citado por (París, 2001) o (Camacho, 2003), manifiestan que el calabacín procede de América, mientras que otros autores como (Paris, 2001), afirman que su principio posiblemente sea Asia.

El hecho de la entrada tardía a Europa fue a causa del desprecio de los franceses por el calabacín durante mucho tiempo, hasta que aprendieron a cocinarlo, esto no ocurrió hasta la II Guerra Mundial. (Ruíz, 2000).

Indistintamente, los primeros cultivos del calabacín en España comenzaron sobre el siglo XVI. (Camacho, 2018).

1.1.3 Taxonomía

Dentro de la taxonomía hay que recalcar que pertenece a la familia de las cucurbitáceas.

El calabacín que pertenece a la familia cucurbitaceae está formada por 118 géneros y 845 especies. A su vez, se agrupan 27 especies dentro de este género, siendo 22 de ellas silvestres. Las especies restantes cultivadas son: *C.argyrosperma*, *C.ficifolia*, *C.maxima*, *C.moschata* y *C.pepo* (Stervens, 2009).

- Reino: *Plantae*
- División: *Tracheophyta*
- Clase: *Manoliopsida*
- Superorden: *Rosanae*
- Orden: *Cucurbitales*
- Tipo: *Fanerógamate*
 - Subtipo: *Angiospermasic*
- Familia: *Cucurbitaceae*
- Género: *Cucurbita pepo L.*
- Especie: *Cucurbita pepo*
 - Subespecie: *pepo*

1.1.4 Composición nutricional

En relación con el aspecto nutricional, el calabacín es un alimento que se singulariza por su contenido en vitamina C, carotenoides y agua.

Profundizando un poco en el contenido nutricional:

La vitamina C (ácido ascórbico) destaca por sus propiedades antioxidantes que ayudan a neutralizar los radicales libres y a eliminar determinadas sustancias tóxicas, disminuyendo la probabilidad de desarrollar cáncer. Esta también inhibe el crecimiento de bacterias dañinas para el organismo, favoreciendo el sistema inmunitario, previene enfermedades vasculares al reducir la tensión arterial.

Los carotenoides que contiene el calabacín actúan como antioxidante previniendo el envejecimiento celular y protegiendo el organismo frente a los radicales libres y la aparición del cáncer, a la vez que se aumentan la eficiencia del sistema inmunitario y se reduce las probabilidades de ataques cardíacos. Los carotenos también son precisados por nuestro organismo para la formación de la vitamina A.

Mientras, el agua (94%), favoreciendo la hidratación de nuestro organismo, al que debemos abastecer, incluyendo el consumo a través de los alimentos.

En último lugar, el resto de los nutrientes presentes en menor medida en este producto, ordenados por importancia de su presencia, son: vitamina del grupo B, (B, B2, B3, B6, B9), potasio, fibra, magnesio, hierro, calcio, fósforo, hidratos de carbono, yodo, vitamina A, proteínas, cinc, calorías, selenio, ácidos grasos poliinsaturados, grasa, vitamina E, ácidos grasos monoinsaturados, ácidos grasos saturados y sodio.

Tabla1. Valor nutricional Calabacín en 100g

Composición nutricional	
Agua	90/95%
Proteínas	0.3/1.8g
Glúcidos	1.7/2.05g
Lípidos	0.2/0.4g
Vitamina A	100/400(U.I.)
Vitamina B1	0.05/0.007mg
Vitamina B2	0.04/0.09mg
Vitamina C	15/20mg
Fosforo	21mg
Calcio	18mg
Hierro	0.6mg
Valor energético	10-(18-20) Kcal


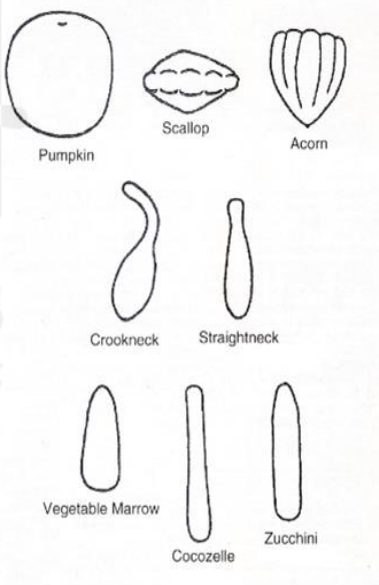
Fuente: Vallés et al.,2006

1.1.5 Variades del calabacín

Concerniente a los frutos de toda la familia *Cucúrbita pepo* L. presentan el mayor polimorfismo de frutos. Desde el punto de vista del color, hay frutos verdes, amarillos, naranjas, blancos, veteados y variegados. La superficie del fruto puede ser suave, con nervaduras, presentar acostillado o ser verrugosos. Mientras que la forma puede ser redondeada, alargadas, con cuello, etc. El tamaño oscila de 5 a 50 cm de diámetro, por último, el color de la carne puede ser blanco o naranja (Nuez, 2000; Robinson y Decker, 2004).

La clasificación más citada es la de Paris (1986) que se fundamenta en la forma del fruto, donde se clasifican 8 tipos varietales, son las siguientes:

Tabla2. Variedades calabacín

Pumpkin	Frutos redondos u ovals, normalmente de color naranja cuando maduran.	
Scallop(vieira)	Frutos pequeños, aplastados, típicamente con bordes ondulados.	
Acorn(bellota)	Frutos pequeños, asurcados, apuntados en el extremo pistilar.	
Crookneck(cuello curvo)	Frutos alargados, con el cuello curvo.	
Straightneck(cuello recto)	Frutos cilíndricos con cuello recto y una ligera constricción.	
Vegetable marrow	Frutos cortos, cilíndricos, que se estrechan desde un amplio extremo pistilar hacia el pedúnculo, con una relación largo/ ancho enter 2:1/3:1	
Cocozelle	Frutos largos, cilíndricos, estrechándose lejos del extremo pistilar, con una relación largo/ancho de 3.5:1 al menos.	
Zucchini	Frutos largos cilíndricos, con escaso o inexistente estrechamiento, con una relación largo/ancho de 3.5:1	

Fuente: Rosales,2007

Los tipos varietales “pumpkin”, “vegetable marrow”, “cocozele” y “zucchini” corresponden a la subespecie pepo, de otra manera, las variedades restantes pertenecen a la subespecie ovífera.

1.2 Producción e importancia económica

Las cucurbitáceas son una familia de plantas de gran importancia etnobotánica. Ocupan el segundo lugar en España y Europa en lo que a producción hortícola se refiere. Justamente, Almería es la región con la mayor superficie de producción de hortalizas de invernadero de la Unión Europea. Las cerca de 30.000 hectáreas de invernaderos se dedican principalmente a la producción de cucurbitáceas y solanáceas. Siendo el calabacín una de las mayores producciones, con un total de 7439 hectáreas.

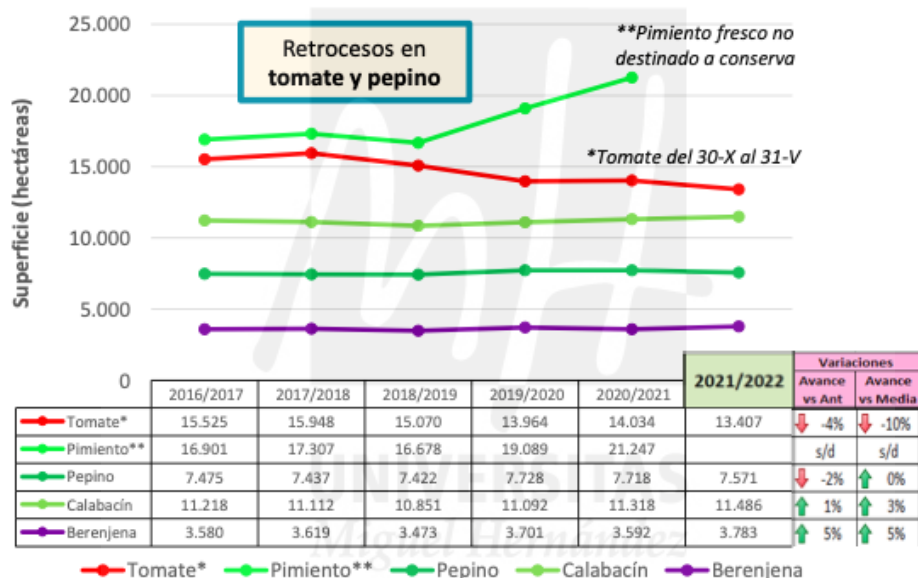


Figura1. Evolución de la superficie de producción de calabacín entre 2016/2022.
Fuente: MAPAMA (2023).

1.3 Parámetros de calidad y maduración del fruto

Antes que nada, hay que proceder a definir la palabra calidad; el concepto de calidad alimentaria puede variar según las prioridades de cada consumidor. Este término tiene muchas definiciones, ya que no se llega a un acuerdo común de lo que es, como se puede medir y como es la aceptabilidad del consumidor.

Este término puede definirse como, la adaptación y conformidad de los requisitos que la propia norma y los clientes establecen (ISO,2021). También puede definirse como el conjunto de cualidades que hacen aceptables los alimentos a los consumidores. Por otra parte, consideramos como producto de calidad aquellos que son atractivos visualmente y tienen buen sabor.

En consecuencia, la calidad alimentaria es el conjunto de factores que determinan que un producto sea sano, es decir que cumpla los parámetros nutricionales, organolépticos y funcionales.

Las propiedades organolépticas, siendo una característica bastante subjetiva al depender de los gustos de cada individuo, se pueden percibir por los sentidos por ejemplo su sabor, olor, textura y color.

La calidad nutricional de un alimento se entiende como la contribución del aporte de nutrientes y energía al organismo.

La calidad funcional, se considera como la cualidad añadida de un alimento, es decir que además de su valor nutritivo también contiene componentes biológicamente activos que aportan algún impacto agregado y beneficioso para la salud, reduciendo así el riesgo de adquirir ciertas enfermedades.

A su vez, hay ciertos factores como el de producción, recolección, manipulación, conservación y comercialización que afectan a la calidad del alimento.

La familia Cucurbitaceae comprende varias especies de importancia comercial, incluyendo frutas comestibles climatéricas como melones y sandías, y frutas no climatéricas como pepinos y no climatéricas como varios tipos de calabacines (Rajasree, et al., 2016). Para la mayoría de las especies de frutas, la madurez en la cosecha y la temperatura de almacenamiento son determinantes y clave en el almacenamiento poscosecha (Ahmad y Siddiqui, 2015). La influencia de estos factores se ha estudiado en profundidad en la mayoría de las especies principales de cucurbitáceas.

La calidad del calabacín se basa en la uniformidad de forma y color, firmeza general, textura de la piel y ausencia de daño mecánico y podredumbres (Suslow y Cantwell, 2014). Al igual que muchas hortalizas recolectadas inmaduras, el calabacín tiene una amplia ventana de cosecha. Por lo general, se recolecta cuando alcanza un tamaño relativamente grande. A pesar de eso, en muchos casos pueden ser cosechados antes en respuesta a las demandas del mercado.

1.4 Problemática poscosecha

Desde el momento de su recolección, las frutas y hortalizas sufren cambios físicos y biológicos, estos cambios influyen en la pérdida de la calidad poscosecha. Estos cambios en la calidad vienen condicionados por procesos o factores como la respiración, la transpiración, la pérdida de peso, la producción de etileno y los daños mecánicos.

La pérdida de agua es un serio problema en los calabacines tras la poscosecha. Después de su recolección el marchitamiento y la pérdida de firmeza avanzan rápidamente, para evitarla se les enfría rápidamente, con un tratamiento de acondicionamiento previo a temperaturas ligeramente bajas para posteriormente almacenarlos a temperatura de refrigeración. (Wang, 1994).

Hay factores biológicos que influyen en el deterioro de los frutos poscosecha, como:

La respiración: es un proceso en el que se libera energía, se consume oxígeno y se depende CO_2 . Por ello se produce una pérdida de la reserva energética de los frutos, que conlleva a ciertas desventajas, como la llegada de la senescencia al agotarse las reservas que suministran energía, seguida por una pérdida de peso seco, mayormente en aquellos productos con un alto contenido en agua y una reducción del valor energético del producto.

La producción de etileno: normalmente, aumenta con el periodo de almacenamiento, incidencias de patógenos, estrés hídrico, heridas físicas y temperaturas superiores a 30° . No obstante, su producción disminuye con la reducción del oxígeno por debajo del 8%, el aumento del CO_2 a más del 2% (niveles variables según el tipo de fruto) y el almacenamiento a bajas temperaturas (Kader, 1992).

Cambios en la composición: en el transcurso, el desarrollo y la maduración de los órganos de la planta tienen lugar cambios de sus pigmentos. Estos continúan después de su recolección y pueden ser o no convenientes (Randel y Rhodes, 1980).

Las alteraciones en las proteínas, lípidos, aminoácidos y ácidos orgánicos tienen influencia en el sabor de los productos. Un ejemplo típico son las pérdidas en el contenido de vitaminas, especialmente del ácido ascórbico (vitamina C), lo que provoca una disminución de la calidad nutritiva.

Transpiración: está asociada a factores internos del fruto, como las características anatómicas y morfológicas, una relación superficie volumen, estados de madurez y heridas superficiales; factores externos o ambientales, es decir temperatura, movimiento del aire, presión atmosférica y humedad relativa.

La transpiración es un proceso físico que puede ser controlado con prácticas que dificulten la pérdida de agua en la planta. Algunas prácticas habituales son el control de una buena ventilación y el mantenimiento de una humedad relativa alta (Brady, 1987).

Desórdenes fisiológicos: la interacción entre temperatura, etileno, duración de almacenaje, CO₂ y concentraciones de oxígeno influyen en la repercusión y severidad de desórdenes fisiológicos relacionados con la composición atmosférica.

Daños físicos: las prácticas deficientes durante la manipulación y recolección, causan heridas superficiales y magulladuras, de manera más directa contribuyen al deterioro de los frutos. Pudiendo no ser visibles por fuera, pero estos daños pueden estar en el interior del fruto.

Los daños físicos no son sólo visibles, sino que además aceleran la pérdida de agua, ofrecen puntos de entrada para los hongos causantes de la descomposición, estimulan la producción de etileno, causan un aumento del ritmo de la respiración (aumento de la producción de CO₂ y, por consiguiente, de la producción de calor (Kader, 1992).

Desórdenes patológicos: las pérdidas cuantitativas son el resultado de la destrucción rápida y extensiva de tejido en toda la anatomía del producto. En algunos casos, los patógenos pueden infectar tejidos aparentemente sanos y ser la primera causa de deterioro. Además, el adelanto de la maduración y la senescencia aumentan la susceptibilidad al ataque de patógenos en todos los frutos. El estrés y las quemaduras por el sol o el frío también disminuyen la resistencia al ataque de estos patógenos (Shewfelt, 1986).

1.5 Daños por frío

El daño por frío es un trastorno fisiológico que ocurre cuando los frutos de origen tropical o subtropical se exponen a temperaturas bajas, pero no congeladas (Sevillano, et al., 2009).

El daño por frío induce severas picaduras, harinosidad y pérdida de textura en las frutas almacenadas, dando como resultado frutas afectadas que se vuelven no aptas para el consumo humano.

Los síntomas aparentes en los daños por frío en el calabacín, son, ablandamiento, pérdida de peso y la aparición de picaduras u hoyos en la superficie de la fruta.

La participación del etileno en los daños por frío no está demostrada, ya que el calabacín es un fruto fisiológicamente inmaduro que produce un bajo nivel de etileno durante su almacenamiento poscosecha, pero que es muy susceptible a los daños por frío. (Martínez, et al., 2002; Balandrán-Quintana, et al., 2003). Sin embargo, como también ocurre en otros frutos no climatéricos, el almacenamiento de frutos inmaduros de pepino y calabacín a temperaturas de enfriamiento induce la producción de etileno (Megías, et al., 2014). De hecho, este etileno inducido por el frío se produce cuando el fruto refrigerado de calabacín se traslada a temperatura ambiente y este calentamiento también es necesario para inducir la producción de etileno en el pepino, los cítricos, y el kiwi (Megías, et al., 2014). Este etileno inducido por el frío aumenta gradualmente durante el almacenamiento en frío de calabacines a 4 °C y alcanza su punto máximo a los 7 días de almacenamiento en frío. Luego, la producción de etileno en el fruto disminuye gradualmente hasta alcanzar la producción basal observada en la cosecha (Megías, et al., 2014).

Para reducir los daños por frío y pérdida de peso, es común utilizar un tratamiento de acondicionamiento previo de temperaturas (Wang, 1994), el cual consiste en mantener la cosecha a 12 °C durante 2 días para posteriormente, enfriarla a 4 °C la cual será su temperatura de almacenamiento, con esto se desencadena una respuesta de defensa contra el estrés oxidativo y aumenta el contenido de ATP y prolina.



Figura2. Depresiones observables en la piel de los calabacines durante el almacenamiento a 4 °C.

Fuente: Elaboración propia.

Tabla3. Síntomas de daños por frío

Fruta inmadura	Síntomas	Temperatura Umbral C °
Pepino	Picaduras superficiales, mayor amarillamiento y susceptibilidad a enfermedades, empapados en agua zonas de la carne	10-12
Berenjena	Picaduras y escaldaduras superficiales, oscurecimiento de la carne y las semillas	8-12
Pimiento Morrón	Picaduras en la superficie, áreas empapadas de agua, oscurecimiento de las semillas y descomposición	
Okra	Descoloramiento; áreas empapadas de agua; picaduras superficiales; lesiones exudativas y descomposición por moho o hongos, cáliz descoloramiento	7-10
Calabacín	Picaduras en la superficie, grandes áreas hundidas, deshidratación, decoloración	7-10
Calabaza amarga	Picaduras que se fusionaron para formar grandes hoyos hundidos de color marrón oscuro; superficie descoloramiento; tejido interno descomponer; decadencia	8-10

Fuente: Elaboración propia Adaptado de Valenzuela et al., 2017.

UNIVERSIDAD
Miguel Hernández

1.6 Tecnologías empleadas en el mantenimiento de la calidad del calabacín

Se han desarrollado diferentes tecnologías poscosecha para evitar o retrasar el desarrollo de daños por frío durante el almacenamiento poscosecha de frutos inmaduros. Actualmente la tendencia del mercado es evitar productos químicos sintéticos, fomentando el uso de tecnologías poscosecha sostenibles basadas en tratamientos físicos, controlando la temperatura, la humedad relativa y el envasado en atmósfera modificada; y tratamientos bioquímicos, utilizando productos naturales y reguladores de crecimiento. Todo ello, con el fin de garantizar la calidad y su posterior comercialización y consumo.

El uso de recubrimientos plásticos con diferentes niveles de permeabilidad a los gases activos produce un equilibrio en la producción de CO₂ y el consumo de O₂ que modifica pasivamente la atmósfera de los productos frescos envasados. Debido a su costo comparativamente bajo, MAP ha sido ampliamente utilizado en la industria para el mantenimiento de la calidad de la fruta y la extensión de la vida útil del producto, tanto en frutas maduras como inmaduras.

La aplicación de melatonina combate los principales problemas causados posterior a su recolección. La melatonina, es una buena alternativa frente a productos químicamente nocivos utilizados poscosecha comercialmente en la fruta. También conocida como N-acetil-5-metoxitriptamina, la cual es una hormona secretada en la glándula pineal. Esta hormona se encuentra en los organismos humanos y tiene una extensa serie de acciones fisiológicas y celulares (Pandi-Perumal et al., 2006). Es una reguladora de sueño, ayudando contra el estrés oxidativo, contra la hipertensión, contra el síndrome metabólico y ayuda al sistema inmunológico al tener una alta eficacia antiinflamatoria (Gomes, D. et al., 2019).

Por otro lado, el 1-Metilciclopropeno (1-MCP), es un producto muy utilizado para prolongar la vida útil de los alimentos. El 1-MCP, actúa retrasando la senescencia natural de los frutos, inhibiendo la acción del etileno.

A continuación, se muestran unas tablas con los distintos tratamientos poscosecha, ya sean físicos o químicos, aplicados a diferentes alimentos, mostrando los efectos que ha tenido cada aplicación.

Tabla4. Tecnología poscosecha Física 1

Tecnologías poscosecha	Tecnología	Especies	Efectos	
Física	Tratamiento térmico	Pepino	Reducción de fugas de electrolitos, etileno inducido por enfriamiento y actividad de ACS y ACO	
			Reducción de fugas de electrolitos y MDA, y actividad mejorada de PLD y LOX	
	Tratamiento térmico	Pimiento verde		Daño por frío reducido, fuga de electrolitos y actividad LOX
				Reducción de la pérdida de peso, el ablandamiento, la descomposición y el daño por frío
				Contenido de PA mejorado y mayor actividad de PAL y PPO
				Daño por frío reducido, firmeza mantenida y acumulación retrasada de ácidos grasos insaturados
		Calabacín	Genes HSP inducidos, firmeza de carne mantenida	
		Berenjena	Daño por frío retardado, espermidina reducida	
	Temperatura	Calabacín	Daño por frío y pérdida de peso aliviados, contenido reducido de H ₂ O ₂ , MDA y ácido ascórbico, e inducido actividad de las enzimas antioxidantes	
	Acondicionamiento previo			
tratamiento	Pepino	Aumento de sólidos solubles, ácido ascórbico y MDA, O ₂ y H ₂ O ₂ , actividad inducida de enzimas antioxidantes, y los carroñeros AsA y glutatión		

Fuente: Elaboración propia Adaptado de Valenzuela et al., 2017.

Tabla5. Tecnología poscosecha física 2

Tecnologías poscosecha	Tecnología	Especies	Efectos	
Física	Atmósferas controladas. Tratamientos de CO2 y O2	Pepino	Aliviado daño por frío, pérdida de peso y cambio en el color de la piel, mantenimiento de fuga de electrolitos y MDA	
		Calabacín	Daño por frío reducido, niveles aumentados de espermidina, espermina y fenoles totales, inducido actividades de oxidasa alternativa, SOD, APX y CAT	
	Atmósferas controladas.	Pimiento verde	Daño por frío reducido y pérdida de peso, mantenimiento de los niveles de ACC, Put y ABA, ascórbico reducido contenido de ácido	
		Okra	Reducción de la pérdida de peso y contenido de ácido ascórbico, aumento de la acidez titulable	
	Uso de fundas de plástico.	Berenjena	Daño por frío retardado, disminución de los niveles de espermidina	
		Pepino	Reducción de la pérdida de peso, descomposición y deformación de la fruta, mantenimiento de la frescura, color y firmeza	
	Recubrimiento de ceramida	Pimiento verde	Daño por frío reducido, pérdida de peso, fuga de membrana y actividad LOX, inducción de HSP desde el familia HSP70	
		Calabacín	Reducción de la producción de etileno y expresión del gen de etileno, reducción de H2O2 y MDA	
		Pimiento verde	Mantenimiento de la integridad de la membrana, MDA reducido, actividad mejorada de POD, CAT y APX	
		Recubrimiento de quitosano	Calabacín	Daño por frío reducido, preservación de la firmeza de la carne
			Pepino	Reducción de daño por frío, fuga de electrolitos y acumulación de MDA, mayor contenido de soluble sólidos, clorofila y ácido ascórbico, SA, y actividad inducida de SOD, CAT, APX y GR

Fuente: Elaboración propia Adaptado de Valenzuela et al., 2017.

Tabla6. Tecnología poscosecha Química 1

Tecnología poscosecha	Tecnologías	Especies	Efectos
Química	1-MCP	Pimiento verde	Retrasar la senescencia asociada con actividades enzimáticas antioxidantes mejorados
		Calabacín	Reducción de la pérdida de peso de la fruta, tasa de respiración y etileno inducido por frío, expresión reducida de genes de etileno
		Berenjena	Pérdida de peso y oscurecimiento reducidos, y actividad reducida de PAL, PPO y POD, y total fenoles
	Brasinoesteroides	Pimiento verde	Disminución de la fuga de electrolitos y del contenido de MDA, actividades mejoradas de CAT, APX y GR
		Berenjena	Mantenimiento de la integridad de la membrana y la humedad y reducción del pardeamiento de la pulpa, reducción acumulación de fenoles y actividades reprimidas de PAL, PPO y POD
	ABA	Calabacín	Retraso en el desarrollo de los síntomas de Daño por frío
	Salicyloyl chitosan recubrimiento	pepino	Mayor contenido de sólidos solubles totales, clorofila y ácido ascórbico, electrolito reducido fuga y MDA, e inducción de SOD, CAT, APX y GR
	SA y MeSA	Calabaza esponja	Una mayor actividad antioxidante reduce las actividades de MDA, SOD mejorada, CAT, APX
	MeSA y MeJA	Pimiento Verde	Aumento de la expresión del gen AOX
		Pepino	Reducción de la acumulación de H ₂ O ₂ actividad de catalasa mejorada
Berenjena		Reducción de la producción de etileno	
MeJA	Pepino	Tolerancia al frío inducida al inhibir la generación de H ₂ O ₂ y la actividad de CAT	

Fuente: Elaboración propia Adaptado de Valenzuela et al., 2017.

Tabla7. Tecnología poscosecha Química 2

Tecnologías poscosecha	Tecnologías	Especies	Efectos
Química		Pimiento verde	Reducción de la producción de etileno
	PAs	Calabacín	Inducción de actividades APX, CAT y GR, aumento del contenido de ascorbato, FRAP, glucosa, fructosa y rafinosa, y actividad LOX reducida
	Óxido nítrico	Pepino	Peroxidación lipídica reducida, acumulación de O ₂ y H ₂ O ₂ y CAT, SOD, APX mejorados y actividades POD
		Judías verdes	Extensión de la vida útil
	6-BA	Pepino	Aumento de clorofila, ácido ascórbico, contenido fenólico total y capacidad antioxidante. reducción de O ₂ , H ₂ O ₂ y peroxidación lipídica, aumento de las actividades de SOD, CAT, APX, GR y ATP
	CK	Calabacín	Deterioro y deshidratación más lentos, acumulación de compuestos fenólicos y disminución solubilidad de pectina y azúcar, desmantelamiento retardado de la pared celular
	GB	Pimiento verde	La reducción de la fuga celular, el contenido de MDA y la peroxidación de lípidos aumentó la actividad y expresión génica inducida de POD, CAT, APX y GR

Fuente: Elaboración propia Adaptado de Valenzuela et al., 2017.

2 OBJETIVOS

Como ya se ha mencionado anteriormente, el calabacín es de origen subtropical, por lo que sus frutos son susceptibles de desarrollar daños por frío, cuando se almacenan a bajas temperaturas.

El calabacín es una fruta no climatérica, lo que significa que no continúa madurando una vez que ha sido cosechado. La etapa de madurez máxima del calabacín se alcanza antes de la cosecha, y después de ser recolectado, no seguirá madurando ni aumentará su contenido de azúcar o sabor. A su vez, es importante seleccionar calabacines que estén en su punto óptimo de madurez.

España es uno de los mayores productores de calabacín del mundo, acompañado de Estados Unidos, Italia, China y Turquía. Sin embargo, el mayor productor mundial es México.

Los rendimientos económicos de las cosechas mermados por la sensibilidad de los calabacines ante los daños causados por el frío, plantean problemas cruciales que necesitan un análisis en profundidad y la búsqueda de soluciones. Existe una carencia considerable de información acerca de los impactos poscosecha tanto de sustancias como la melatonina, así como del 1-MCP. Por esta razón, el objetivo general de este Trabajo Final de Grado ha sido evaluar las aplicaciones con distintas tecnologías sobre la calidad de los calabacines. Además, también evaluaremos si la aplicación de estas tecnologías pudiera tener un efecto positivo al emplearse combinadas entre sí.

Para lograr los objetivos planteados con anterioridad se evaluarán los siguientes parámetros de calidad clave para esta especie vegetal y que se describen a continuación:

- Pérdida de peso en los frutos del calabacín.
- Producción de Etileno.
- Tasa de respiración.
- Color de los frutos.
- Determinación de los daños por frío.
- Firmeza.
- Determinación de sólidos solubles totales (SST).
- Determinación de la acidez titulable (AT)
- Contenido en malondialdehído.

3 MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Material Vegetal

Para la realización de este Trabajo de Fin de Grado experimental se utilizó el calabacín (*Cucúrbita pepo*), variedad Cronos.

Tras la recolección, realizada en una finca comercial de Orihuela, los frutos fueron transportados directamente al laboratorio de poscosecha de la Universidad Miguel Hernández de Elche.

Para comenzar este trabajo, se procedió a la selección de los calabacines. La selección se establecía teniendo en cuenta la homogeneidad en el tamaño de este fruto, la ausencia de defectos e imperfecciones y el color. Para este ensayo se seleccionaron 360 calabacines. Estos, se agruparon en lotes de 15 calabacines divididos en 4 muestras de 15 frutos cada uno. Además, a la llegada de estos productos vegetales al laboratorio, se seleccionaron 15 frutos para evaluar la calidad de los mismos el día de llegada, nombrado como día 0, para así establecer las condiciones en las que los calabacines llegaron al laboratorio.

Una vez seleccionados, los frutos se trataron por inmersión en soluciones con melatonina 1 mM durante 60 minutos (esta concentración y tiempo de inmersión fue establecida en experimentos previos por parte del Grupo de Investigación en Poscosecha). A continuación, se dejaron secar 30 minutos a temperatura ambiente y se almacenaron a temperaturas subóptimas para este fruto (4°C) en la cámara de frío durante 28 días para semanalmente ser evaluadas.

Además, otro lote de frutos fue tratado con 1-MCP (2700 ppb) tal y como estableció Megías, et al., (2016) en experimentos previos. Este tratamiento se realizó mediante la liberación de este compuesto a partir de pastillas de 1-MCP que se dispusieron en el interior de recipientes de 130 L herméticos donde se introdujeron los frutos. El tratamiento tuvo una duración de 48 horas a 12 °C. Durante este tiempo el resto de frutos también se mantuvieron en recipientes herméticos similares para asegurar las mismas condiciones de tratamiento y almacenamiento en todos los lotes. Tanto control, tratados con melatonina por inmersión y los tratados con 1-MCP. Además, también se realizó un tratamiento adicional en el que los frutos tratados con melatonina previamente se introdujeron en recipientes herméticos para realizarles un tratamiento adicional con 1-MCP con el objeto de observar si la combinación de tratamientos podría suponer alguna ventaja con respecto a los tratamientos aplicados por separado. Tal y como el Grupo de Investigación en poscosecha observó en experimentos anteriores, la propia inmersión de este producto en agua produce un efecto de conservación debido a la anoxia del fruto. Por ello todos los frutos control de este experimento que no fueron tratados con melatonina también se sumergieron previamente en agua destilada para asegurar las mismas condiciones entre los frutos ya que las diferencias obtenidas serían más restrictivas si todos estos frutos han pasado por un baño previo que si no sufren este proceso de anoxia.

Los frutos tratados únicamente con 1-MCP no se sumergieron previamente ya que reflejaran la capacidad de este compuesto de extender la vida útil del fruto por sí solo.

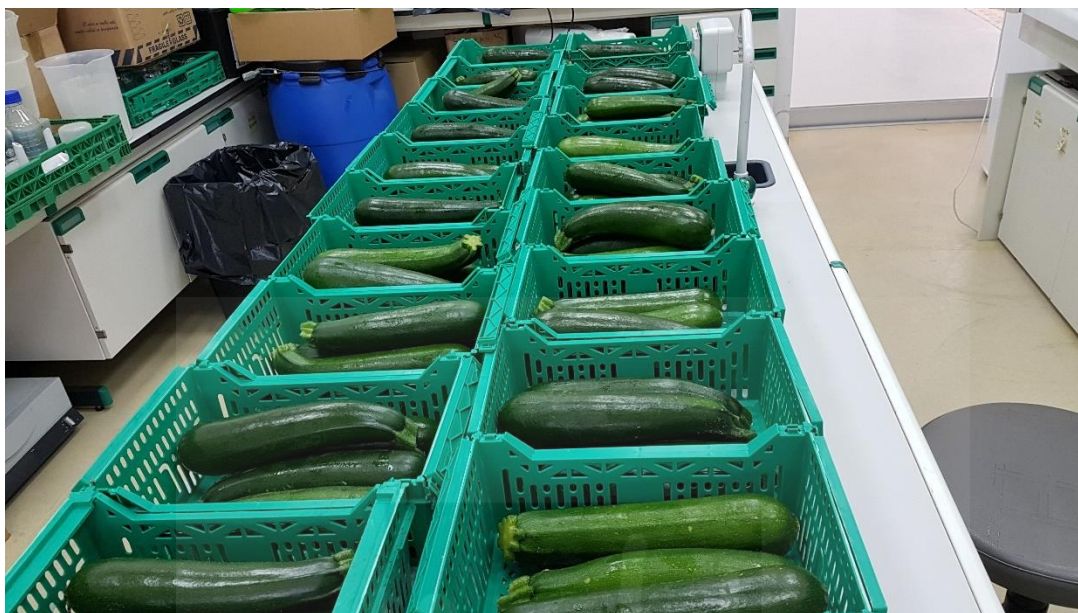
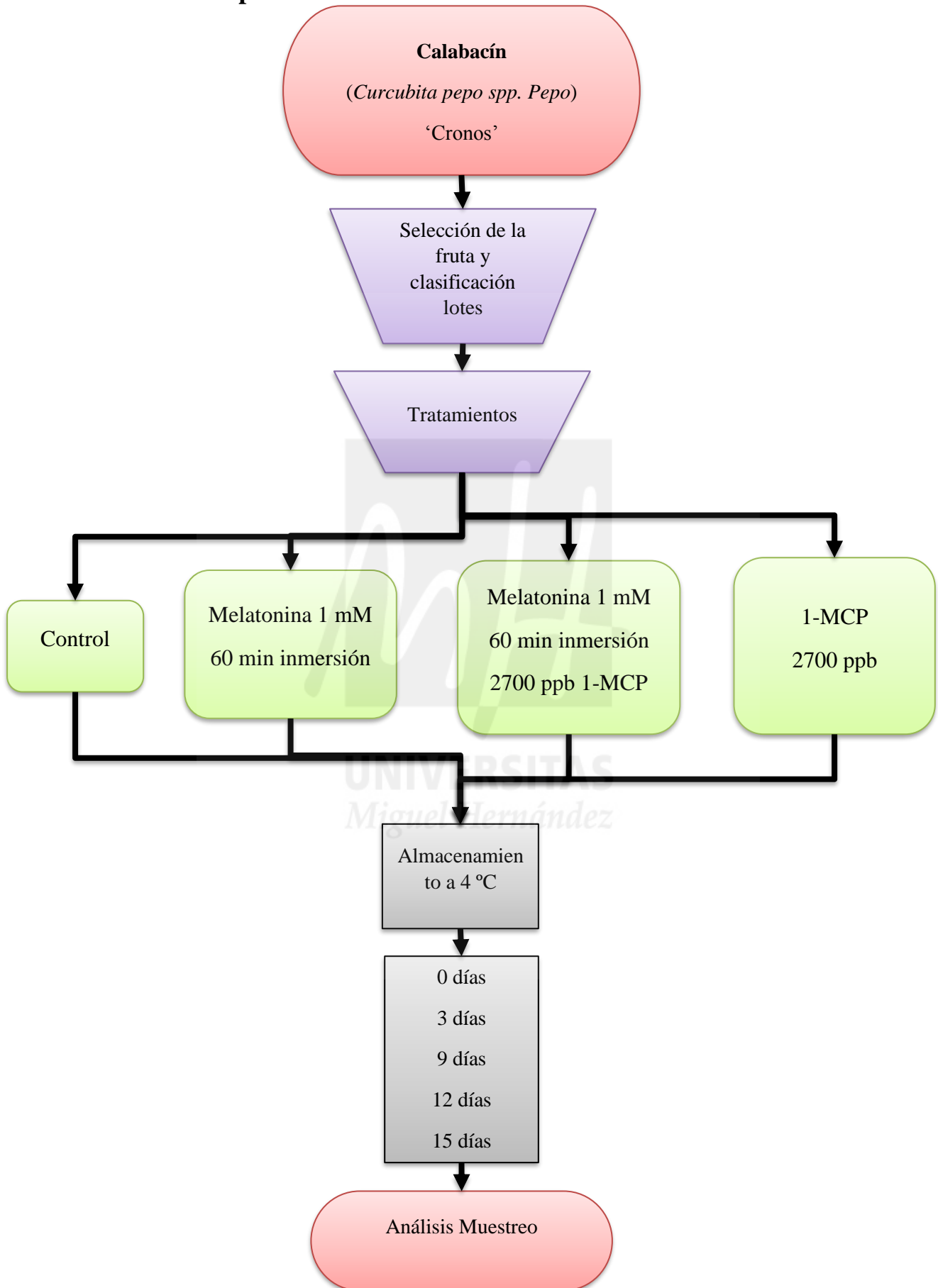


Figura3. Materia prima Calabacín.

Fuente: Elaboración propia.

UNIVERSITAS
Miguel Hernández

3.2 Diseño experimental



3.3 Determinaciones analíticas

3.3.1 Pérdida de peso

Las pérdidas de peso se midieron en cada lote registrando el peso del fruto en la cosecha (día 0) y durante el almacenamiento en las diferentes fechas de muestreo más dos días a 20°C. La acumulación de pérdidas de peso se expresó en forma de porcentaje (%) con respecto al peso del fruto en el día 0. Para tal tarea, se utilizó una báscula de precisión de la marca Radwag, con una exactitud de decigramos $\pm 0,01$.



Figura4. Pesado Calabacín

Fuente: Elaboración propia.

3.3.2 Determinación de CO₂ y Etileno

La respiración y el etileno se determinaron mediante el sistema estático propuesto por Kader (1992) de forma individual en 15 calabacines de cada tratamiento. Se introdujeron los frutos de forma individual en tarros de cristal de 2,2 litro de capacidad, con cierre hermético y una tapadera que tenía una válvula de goma, que permitió realizar las inyecciones para extraer la muestra gaseosa. Los frutos permanecieron en los tarros durante 30 minutos, tras los cuales se extrajeron 4 ml de la atmósfera del envase hermético

con una jeringa de 1 ml. Dos mililitros se utilizaron para determinar el CO₂, mediante un cromatógrafo de gases Shimadzu TM 14A, equipado con un detector de conductividad térmica.

La concentración de CO₂ en las muestras tomadas de los frascos, se calculó comparando el área de integración del pico de la muestra con la de los patrones utilizados de concentración conocida. Los resultados para la tasa de respiración fueron la media ± ES y se expresaron como mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.

Los dos mililitros restantes se utilizaron para medir la producción de etileno mediante un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard TM 5890A, provisto de un detector de ionización de llama (FID) y columna de acero inoxidable de 3 m de longitud total y de 2 mm de diámetro interno, con relleno de alúmina de 60/80 mesh. La producción de etileno se expresó como nL g⁻¹ h⁻¹.

Las condiciones cromatográficas se han descrito previamente por (Martínez-Romero, 2002).



Figura5. Prueba CO₂ y Etileno

Fuente: Elaboración propia

3.3.3 Evaluación de color

La determinación del color se obtuvo utilizando el sistema de CIELab (L^* , a^* , b^*) mediante un colorímetro triestímulo Konica Minolta modelo CR200. Se efectuaron tres mediciones del color para cada fruto por duplicado en tres puntos equidistantes de la zona central ($n=30$).

Los tres parámetros son los siguientes:

- L^* : Indica la luminosidad del fruto y varía de 0 (negro) a 100 (blanco).
- a^* y b^* : Indican conjuntamente la cromaticidad, a^* representa el eje que va desde colores verdes ($-a^*$) hasta colores rojos ($+a^*$); y b^* representa el eje que va desde el color azul ($-b^*$) hasta color amarillo ($+b^*$).

Cada valor viene expresado por los valores de estas tres coordenadas, que representan un punto en el espacio tridimensional (Minolta, 1994). Los resultados se expresaron como L^* , a^* , b^* y el ángulo de CIE hue^* ($H^* = \arctg b^*/a^*$).

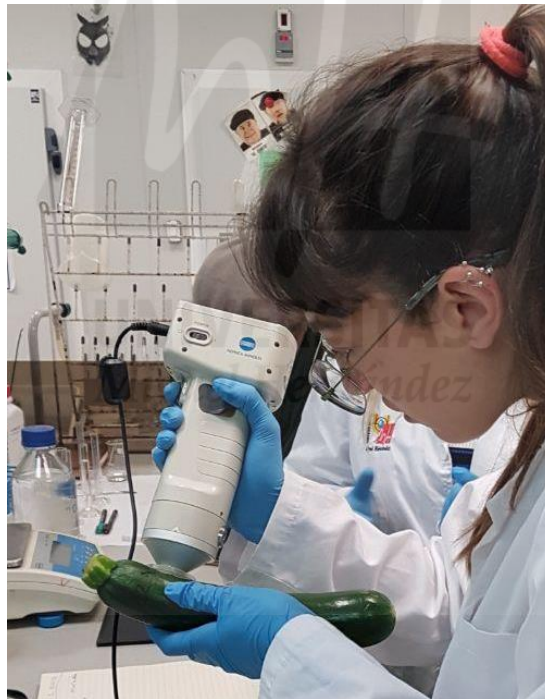


Figura6. Prueba colorimetría.

Fuente: Elaboración propia.

3.3.4 Determinación de la firmeza

La firmeza de los calabacines se midió por duplicado en cada fruto de cada lote y tratamiento con un analizador de textura TX-XT2i (Stable Microsystems, Godalming, Reino Unido) equipado con una sonda plana para producir sobre el fruto una fuerza de deformación del 5% del diámetro del fruto. Los resultados se expresaron como la relación entre la fuerza aplicada y la distancia recorrida (N mm^{-1}) y son la media del SE.



Miguel Hernández

Figura7. Prueba Firmeza.

Fuente: Elaboración propia.

3.3.5 Evaluación de los sólidos solubles totales (SST)

El contenido en Sólidos Solubles Totales (SST) se determinó por duplicado en el zumo obtenido de la pulpa de cinco calabacines de cada réplica por lote, usando un refractómetro digital Atago PR-101 (Atago Co. Ltd.; Tokyo Japón) a 20°C y expresado como porcentaje ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$).

A partir del mismo zumo usado en la determinación de sólidos solubles totales (SST) se llevó a cabo la determinación de la acidez titulable (AT). Mediante valoración automática con un valorador Metrohm modelo 785DMP Tritino, se añadió $\text{NaOH } 0,1 \text{ N}$ a una

muestra de 1 ml de zumo diluido en 25 ml de agua destilada hasta alcanzar un valor de pH 8,1. Los resultados se expresaron como porcentaje de ácido málico (meq. Ácido málico = 0,067).



Figura8. Prueba SST.

Fuente: Elaboración propia.

3.3.6 Determinación de la fuga de electrolitos

La evaluación de la fuga de electrolitos se determinó con el método expuesto por Mao (et al., 2007). Se extrajeron 20 discos de la piel de los calabacines de cada tratamiento, midiendo tres réplicas de cada uno, usando para ello un perforador metálico de 5 mm de diámetro. Dichos discos, se incubaron durante tres minutos en tres baños consecutivos de agua desionizada. A continuación, estos discos se sumergieron en 50 ml de agua desionizada durante 30 minutos en botes herméticos de cristal expuestos a agitación. Una vez transcurrido el tiempo necesario de incubación se procedió a medir la conductividad de las muestras (conductividad inicial) en el medio acuoso mediante un Conductímetro Crison Methrom 664. Para terminar, se autoclavaron los botes herméticos a 100°C durante 10 minutos. Una vez enfriada la muestra, se efectuó la segunda medición de la conductividad (conductividad final) y la fuga de electrolitos se expresó como el porcentaje de $(\text{conductividad inicial} / \text{conductividad final}) \times 100$.

3.3.7 Malondialdehído

El contenido de malondialdehído (MDA) se ensayó en la piel de calabacín siguiendo el método de Zhang (et al., 2019) con modificaciones. La muestra de tejido (1,0 g) se homogeneizó en 10 ml de solución de ácido tricloroacético al 10% y luego se centrifugó a 10.000 g durante 10 min. Se añadieron 2 ml de sobrenadante a un tubo de ensayo con 6 ml de ácido tiobarbitúrico al 0,6% por duplicado y se mezcló vigorosamente. Los tubos de ensayo se mantuvieron a 95 °C durante 20 min. Las muestras se enfriaron rápidamente, se atemperaron a temperatura ambiente y se evaluaron en un espectrofotómetro (1900 UV/Vis, Shimadzu, Kioto, Japón) donde se midió la absorbancia a 450, 532 y 600 nm. El contenido de MDA se calculó siguiendo las indicaciones establecidas por Zhang (et al., 2019) y se expresó como $\mu\text{mol kg}^{-1}$. Cada evaluación se realizó por triplicado en cada réplica.



Figura9. Prueba electrolitos y MDA

Fuente: Elaboración propia.

3.3.8 Daños por frío

Para la evaluación del daño en el calabacín se observó el área superficial afectada por el daño por frío y la severidad del daño de cada fruto. Las calificaciones se basaron en una escala hedónica de 6 puntos, en la que la superficie del fruto afectada se utilizó para clasificar cada fruto de forma similar al ensayo realizado por Megías, et al., (2014), con la siguiente escala: 0 = sin picado, 1 = 5% de picado, 2 = 6-15% de picado, 3 = 16-25% de picado, 4 = 26-50% de picado y 5 = 50% del área superficial afectada por el picado.

Por otra parte, para evaluar la gravedad de los síntomas de depresiones superficiales o picadura, la escala fue 0 = sin daños, 1 = daños muy superficiales, 2 = daños superficiales, 3 = daños moderados, 4 = daños graves, 5 = daños muy graves. El índice de daño por frío se obtuvo al hacer la media de ambas evaluaciones.



Figura10. Evaluación daños por frío.

Fuente: Elaboración propia.

3.3.9 Análisis estadístico

Para llevar a cabo el análisis estadístico, se utilizó un paquete de software SPSS v. 22.0 para Windows. Para las distintas determinaciones se ha realizado el análisis de varianza (ANOVA). Las fuentes de variación fueron el tiempo de almacenamiento y el tratamiento aplicado. La comparación de las medias se midió usando un test HSD Tukey, considerando que hay diferencias significativas si a $p < 0,05$.

4 Resultados y discusiones

4.1 Pérdidas de peso

Durante el deterioro del calabacín se producen pérdidas de peso debido a las pérdidas de agua durante la transpiración, dando lugar a pérdidas de calidad. Las frutas y verduras tras su recolección continúan los procesos de transpiración, provocando con ello la pérdida de peso del fruto (Valero y Serrano, 2010).

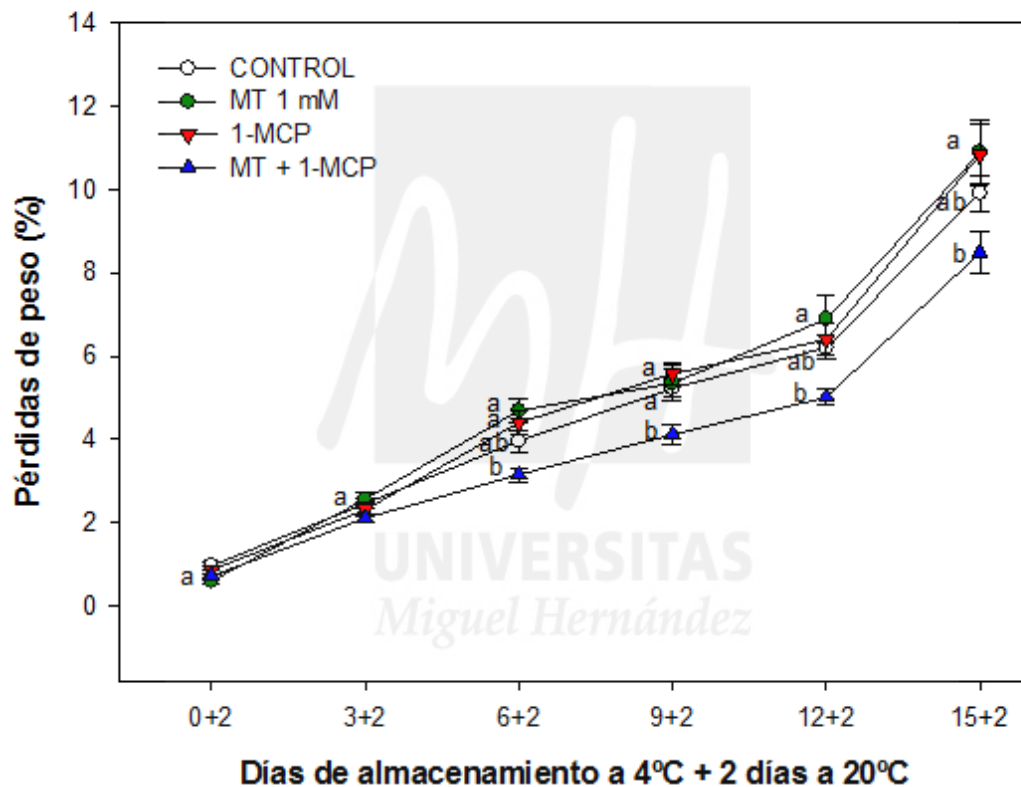


Figura 11. Evolución de la pérdida de peso (%) en los calabacines control y tratado con las diferentes dosis de 1-MCP y MT tras el almacenamiento a 4 °C más 2 días a 20 °C.

Tras la evaluación de dichos parámetros se pudo comprobar que, aunque la melatonina no tuvo un efecto muy significativo sobre los frutos, en el 1-MCP si se pudo observar un retraso significativo con respecto a los frutos control y los tratados con melatonina. Ahora bien, cuando estos dos tratamientos se trataron de forma conjunta, el retraso de la respiración fue superior al mostrado por el resto de los tratamientos.

Son distintos los estudios que han demostrado la capacidad que tienen tanto los tratamientos con 1-MCP como con melatonina retrasando las pérdidas de peso de los frutos. La melatonina estaría retrasando el metabolismo de los frutos (Jannatizadeh et al., 2019) mientras que el 1-MCP mantendría la integridad de las membranas (Cao et al., 2012; Megías et al., 2016). Esa podría ser la razón por la que el efecto combinado tuvo un efecto sinérgico a la hora de controlar las pérdidas de peso del fruto.

4.2 Producción de CO₂ y Etileno

La respiración consiste en una serie de reacciones catalizadas por enzimas, cuya velocidad está relacionada con la temperatura. Las frutas y hortalizas respiran tras su recolección, a pesar de que la actividad fotosintética se interrumpa. Con el fin de obtener energía, los azúcares provenientes de la degradación del almidón se oxidan, formándose H₂O y CO₂. (Valero y Serrano, 2010).

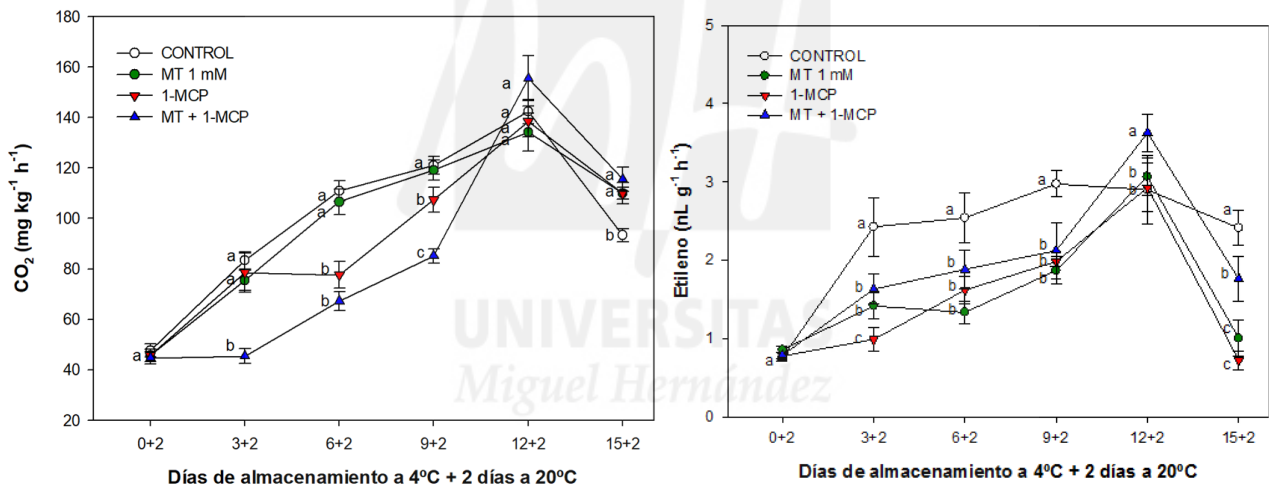


Figura 12. Respiración ($\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) (A) y producción de etileno ($\text{nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) (B) de calabacines 'Cronos' tratados con melatonina a 1 mM (MT) o agua destilada (Control), con o sin 1-MCP, durante el almacenamiento refrigerado más 2 días a 20 °C. Los datos son la media \pm ES ($n = 3$). Letras minúsculas diferentes muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos para cada fecha de muestreo.

Con respecto a la respiración y la producción de etileno de los frutos, pudimos comprobar que este parámetro aumentó a lo largo del almacenamiento. Así mismo, observamos diferencias significativas con varios tratamientos respecto al control.

En general, los tratamientos consiguieron reducir los valores de respiración y de etileno a lo largo de los diferentes muestreos. Sin embargo, pese que el 1-MCP tuvo buenos resultados por sí solo en ambos parámetros, la combinación de ambos mostró un efecto sinérgico observándose el mayor retraso de la respiración.

En una revisión reciente (Wang et al., 2020) se muestra como la melatonina ha mostrado una alta eficacia sobre los frutos reduciendo parámetros relacionados con la senescencia, pero incrementando otros relacionados con su desarrollo y maduración como es el caso del etileno. Además, en otros estudios se ha demostrado la conversión de la melatonina en ácido γ -aminobutírico (GABA) (Shelp et al., 1999). Este incremento de GABA provee a la célula de un inmediato sustrato energético que utiliza para recuperarse del estrés, incrementándose el balance energético neto en las células vegetales y cubriendo las necesidades energéticas de la planta. Asimismo, está demostrado el efecto retrasando tanto la maduración como la producción de etileno la aplicación de 1-MCP en calabacines (Megías et al., 2016)

4.3 Color

El color verde en el calabacín está determinado por el contenido de clorofila y el impacto del almacenamiento en la degradación de los pigmentos se correlaciona con una reducción en el valor de ángulo hue* en la variedad Cronos. Estos autores también observaron que la senescencia de los frutos de calabacín se acompaña de una disminución de los pigmentos de clorofila y del valor del ángulo hue* durante el almacenamiento en la variedad Cronos, principalmente debido a la pérdida de integridad de la pared celular, lo que reduce la firmeza y contribuye a la degradación de los pigmentos de clorofila. En este sentido, se ha demostrado que los tratamientos con 1-MCP mantienen la firmeza del tejido y el contenido de clorofila, retrasando la senescencia en frutas climatéricas y no climatéricas (Du et al., 2021; Bi et al., 2022). Por otro lado, se ha demostrado que los tratamientos con melatonina retrasan el descoloramiento del tejido, manteniendo el contenido de clorofila en diferentes productos vegetales tratados con melatonina, como el brócoli, el mango o el pepino (Wei et al., 2020; Dong et al., 2021; Madebo et al., 2021).

Pudimos comprobar que el ángulo hue* descendió, a lo largo del almacenamiento a 4 °C más dos días a 20 °C, a lo largo de los 15 días de almacenamiento que duró el experimento. A su vez, apreciamos diferencias entre los tratamientos. La melatonina por si sola no mostró diferencias significativas. Sin embargo, el 1-MCP, si fue capaz de retrasar ligeramente la evolución del color. De cualquier forma, cuando los dos tratamientos se combinaron, se contempló el mayor retraso entre todos los tratamientos ensayados.

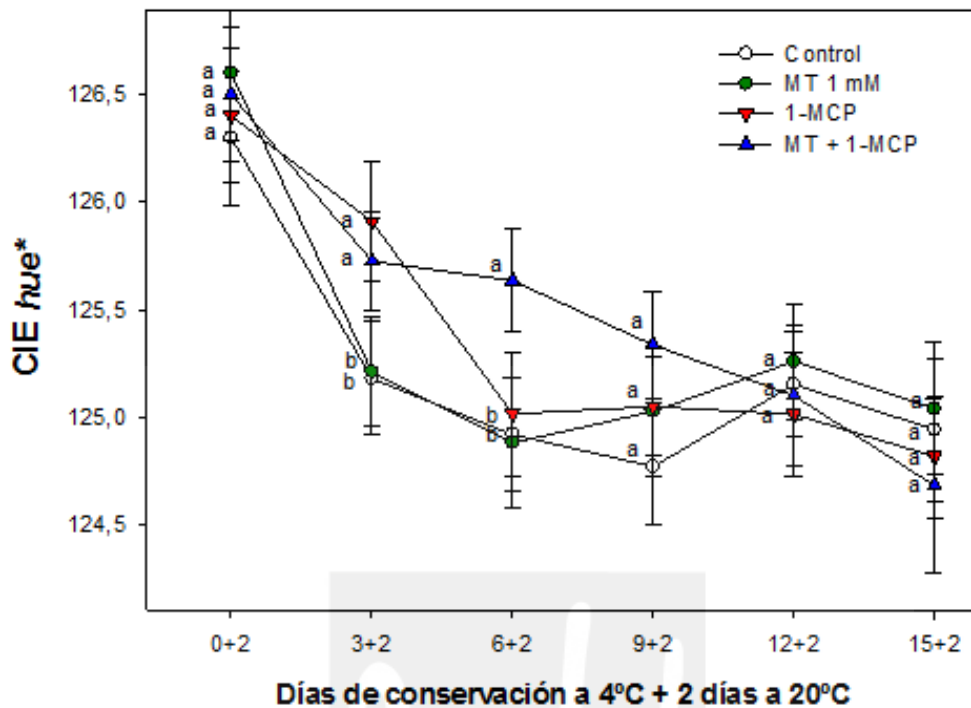


Figura 13. Evolución del ángulo CIE Hue* en calabacines 'Cronos' tratados con melatonina 1 mM (MT) o agua destilada (Control), con o sin 1-MCP, durante el almacenamiento refrigerado más 2 días a 20 °C. Los datos son la media \pm ES ($n = 3$). Letras minúsculas diferentes muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos para cada fecha de muestreo.

UNIVERSITAS
Miguel Hernández

4.4 Sólidos solubles totales

Los sólidos solubles totales aumentan durante el almacenamiento debidos a la degradación del almidón en azúcares simples. Que incrementan su concentración durante la maduración del fruto.

Si observamos los datos obtenidos con respecto a los sólidos solubles, se pudo observar como a lo largo del almacenamiento estos descendieron. A su vez, se comprobó que los tratamientos con melatonina fueron efectivos a la hora de retrasar la acumulación del contenido en sólidos solubles respecto al control.

Por otra parte, la aplicación única de 1-MCP reveló un importante retraso con respecto a la evolución de este parámetro durante el almacenamiento con respecto a los diferentes tratamientos, aunque este efecto se siguió observando con el tratamiento combinado (1-MCP + Melatonina).

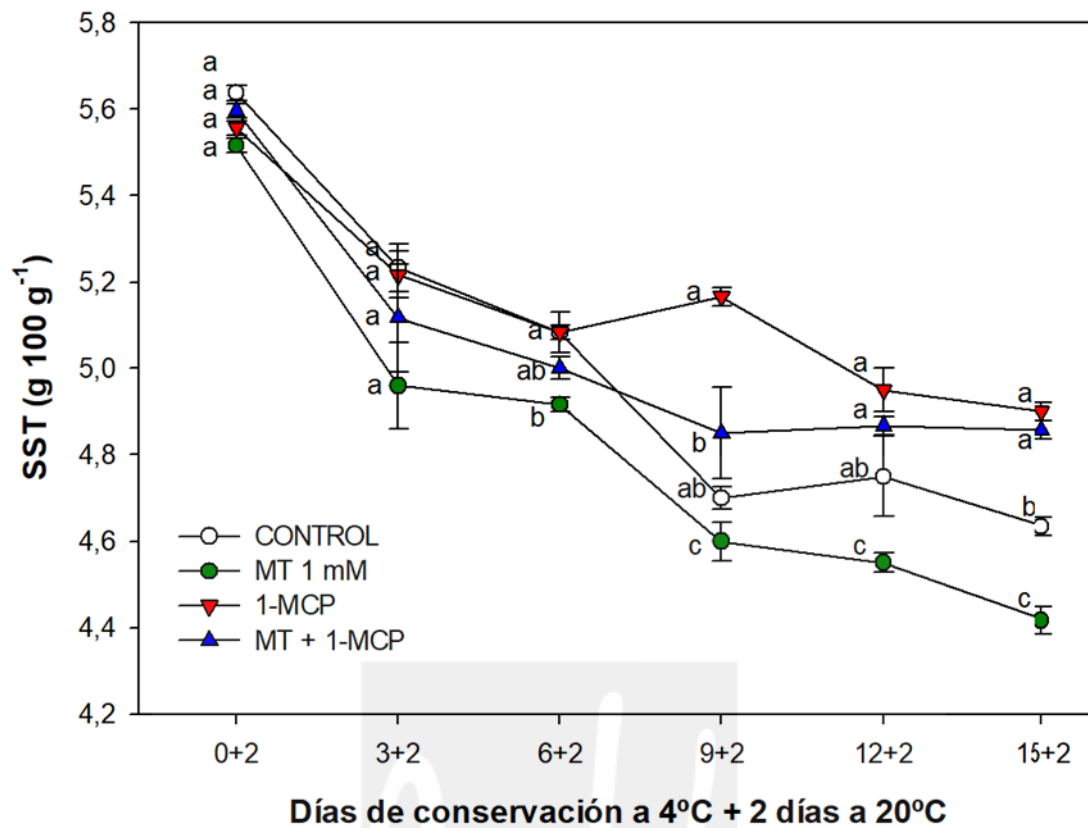


Figura 14. Evolución del contenido en Brix (%) en calabacines control y tratados con distintas dosis de 1-MCP y MT tras el almacenamiento a 4 °C más dos días a 20 °C.

El contenido de sólidos solubles es un atributo importante que refleja la concentración de azúcar en las células, la cual aumenta mediante la conversión del almidón en azúcar. Sin embargo, en este estudio y en consonancia con estudios previos sobre el calabacín, parece que, a 20 °C, el consumo de azúcar es más rápido que su acumulación, lo que conduce a la senescencia. Estudios previos han demostrado la eficacia del 1-MCP retrasando la acumulación de azúcares (Megías et al., 2016) mientras que la melatonina estaría retrasando el metabolismo del fruto y con ello la senescencia y la acumulación de azúcares en los calabacines (Shelp et al., 1999).

4.5 Acidez

La acidez se relaciona con el estado de maduración de los frutos, relacionándose los valores altos de acidez con estados inmaduros y los valores inferiores, con etapas más avanzadas en la maduración (Valero y Serrano, 2010).

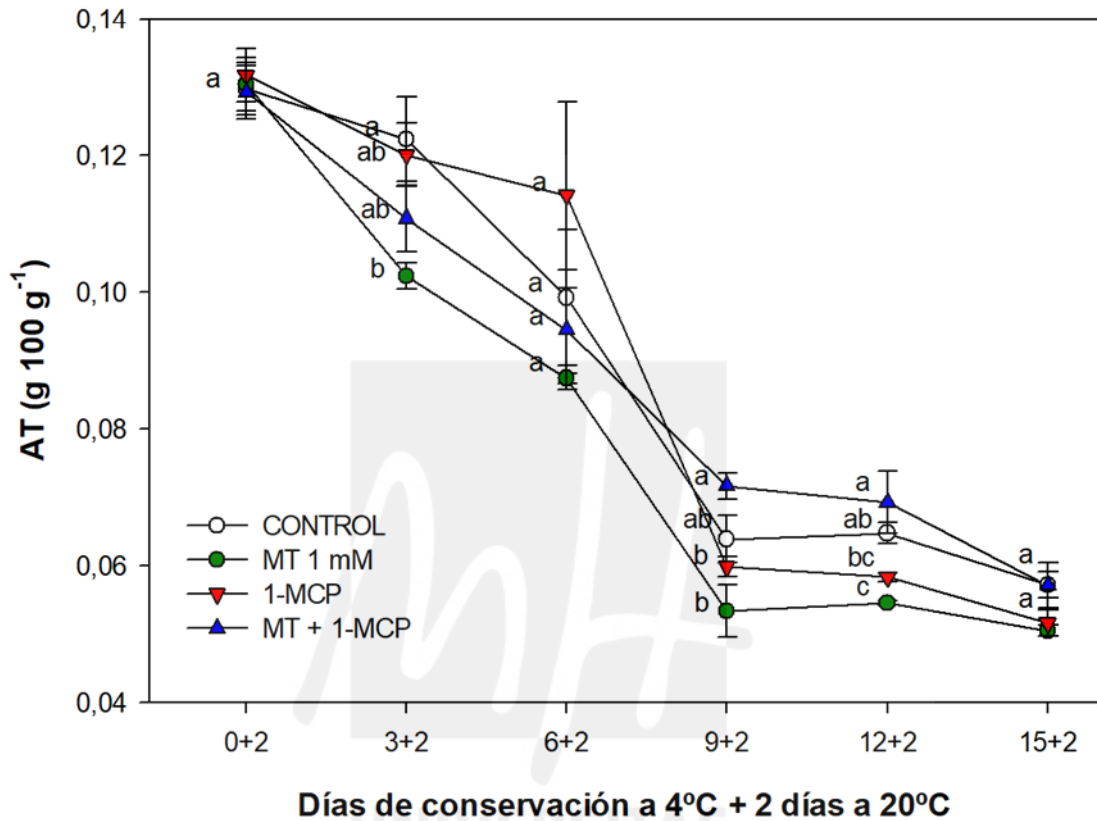


Figura 15. Evolución de la acidez titulable ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) en calabacines control y tratados con distintas dosis de 1-MCP y MT tras el almacenamiento a 4°C más dos días a 20°C .

En cuanto a la acidez, se pudo comprobar que tras almacenamiento a 4°C más dos días a 20°C , disminuyó durante el almacenamiento en todos los tratamientos y el control. Sin embargo, no hubo un efecto significativo provocado por los distintos tratamientos a la hora de retrasar la pérdida de acidez ya que las diferencias fueron muy bajas. Al igual que se ha comentado en el parámetro anterior, se ha descrito que tanto el 1-MCP como la melatonina son capaces de retrasar el metabolismo del fruto lo que daría lugar a frutos con un mayor nivel de acidez (Shelp et al., 1999; Megías et al., 2016).

4.6 Firmeza

La textura de las frutas y hortalizas sufren una serie de transformaciones desde que el fruto se encuentra presente en la planta hasta que llega el momento de la recogida y el almacenamiento en poscosecha. Estos cambios en la textura son debidos a la actividad hidrolítica de enzimas que se encargan de degradar pectinas, celulosas y hemicelulosas de la pared celular (Paniagua et al., 2014).

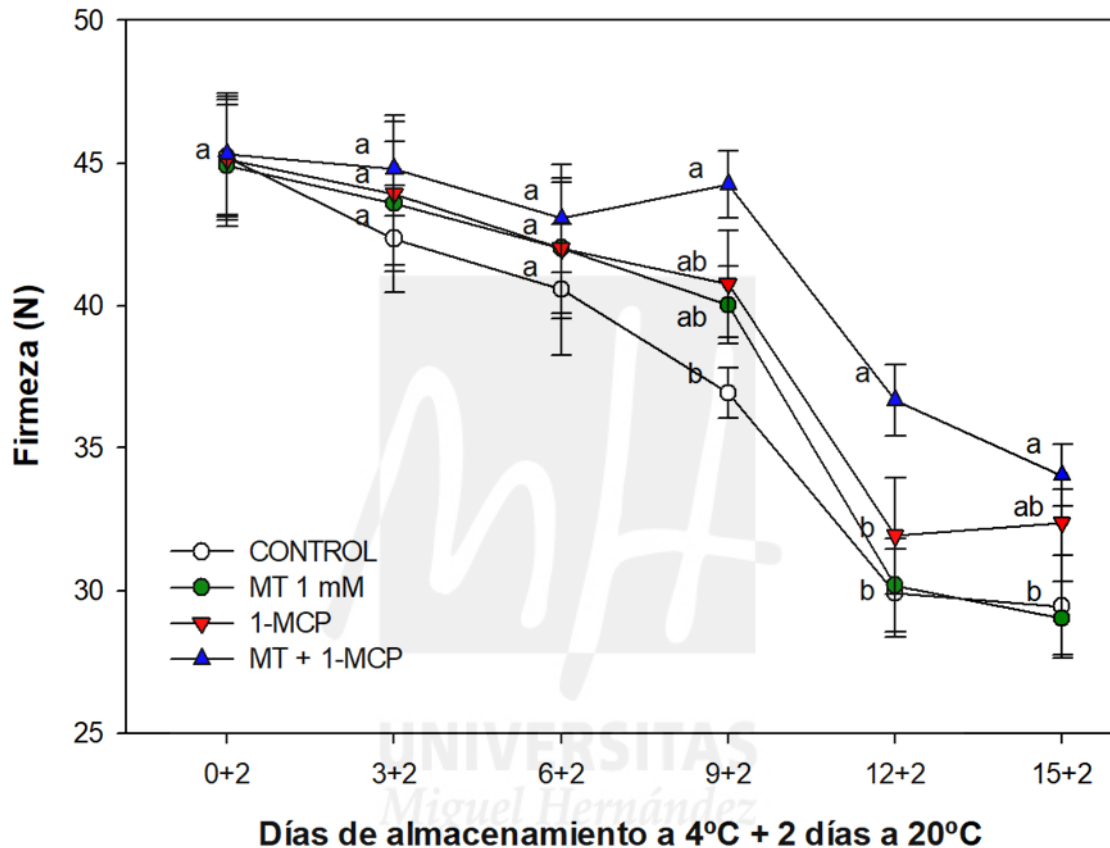


Figura16. Evolución de la firmeza (N) en calabacines 'Cronos' tratados con melatonina 1 mM (MT) o agua destilada (Control), con o sin 1-MCP, durante el almacenamiento refrigerado más 2 días a 20 °C. Los datos son la media \pm ES ($n = 3$). Letras minúsculas diferentes muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos para cada fecha de muestreo.

Al estudiar este parámetro pudimos comprobar que los tratamientos en combinación con melatonina y 1-MCP mostraron los valores más altos de firmeza tras el almacenamiento, con respecto al resto de tratamientos como el control o únicamente la aplicación de melatonina o 1-MCP, por separado. Pese a que los tratamientos aplicados por separado consiguieron retrasar la evolución de la firmeza con respecto al control, el mayor control de este parámetro se dio cuando se combinaron ambos tratamientos.

La pérdida de firmeza suele estar relacionado con la pérdida de peso de los frutos al disminuir la turgencia celular (Valero y Serrano, 2010). El 1-MCP mantiene la integridad de las membranas al igual que la melatonina, solo que mientras se ha descrito que el 1-MCP es capaz de retrasar la actividad de las enzimas de degradación de la pared celular (Valero y Serrano, 2010; Liu et al., 2019) la melatonina mantendría el balance antioxidante reduciendo la oxidación de las membranas (Molla et al., 2022)

4.7 Evolución de la fuga de electrolitos y contenido en MDA

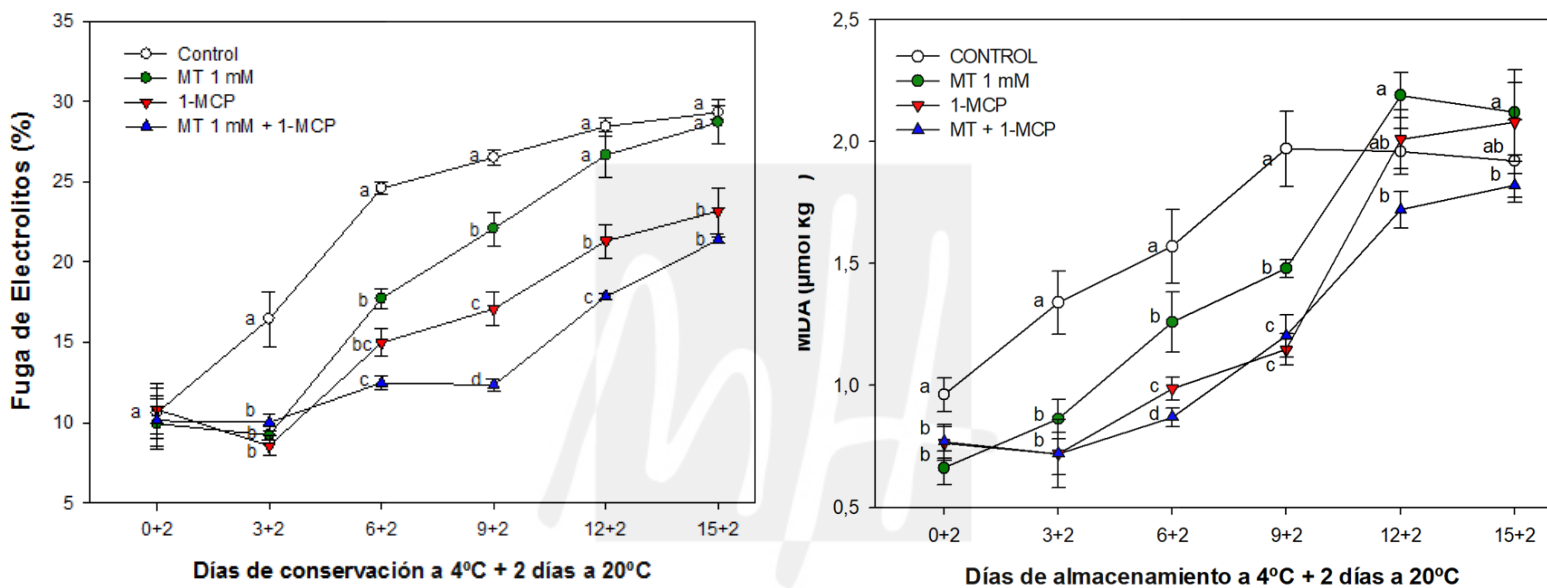


Figura 17. Evolución de malondialdehído (MDA) y fuga de electrolitos en calabacines control y tratados con distintas dosis de 1-MCP y MT tras el almacenamiento a 4 °C más dos días a 20 °C.

Si observamos los datos obtenidos, pudimos comprobar que la fuga de electrolitos aumenta durante la conservación al igual que ocurrió con el contenido en MDA. Sin embargo, los tratamientos efectuados fueron capaces de retrasar esta evolución en ambos parámetros con respecto a los frutos controles. Los tratamientos con 1-MCP fueron menos efectivos a la hora de retrasar la fuga de electrolitos que la aplicación de 1-MCP+melatonina. Por otro lado, el contenido en MDA no mostró diferencias entre estos distintos tratamientos hasta el final del almacenamiento en los cuales el tratamiento combinado mostró un mayor retraso en la acumulación de MDA hacia el final del experimento.

Trabajos previos han sugerido que el 1-MCP afecta las actividades de enzimas antioxidantes (Cao et al., 2012; Xu y Liu, 2017), al igual que los tratamientos con melatonina en diferentes frutas (Arnao y Hernández-Ruiz, 2019; Wang et al., 2020),

reduciendo el contenido de MDA y el impacto en fuga de electrolitos, en consonancia con nuestros resultados. Por esta razón, el efecto similar observado en estos parámetros después de aplicar el 1-MCP o melatonina por separado podría ser la razón por la cual la reducción en el contenido de MDA y la evolución de la fuga de electrolitos fueron mayores cuando ambas sustancias se aplicaron juntas.

4.8 Efecto sobre los daños por frío

Son muy numerosas las disfunciones celulares y las alteraciones fisiológicas y bioquímicas que induce el frío en los productos vegetales: generalmente estimula la tasa respiratoria y la emisión de etileno, reduce la fotosíntesis, interfiere la producción de energía, aumenta la energía de activación, retrasa la fluidez del protoplasma, aumenta la permeabilidad de la membrana, inactiva algunos enzimas, y altera la estructura celular (Wang y Adams, 1982; Wang, 2000).

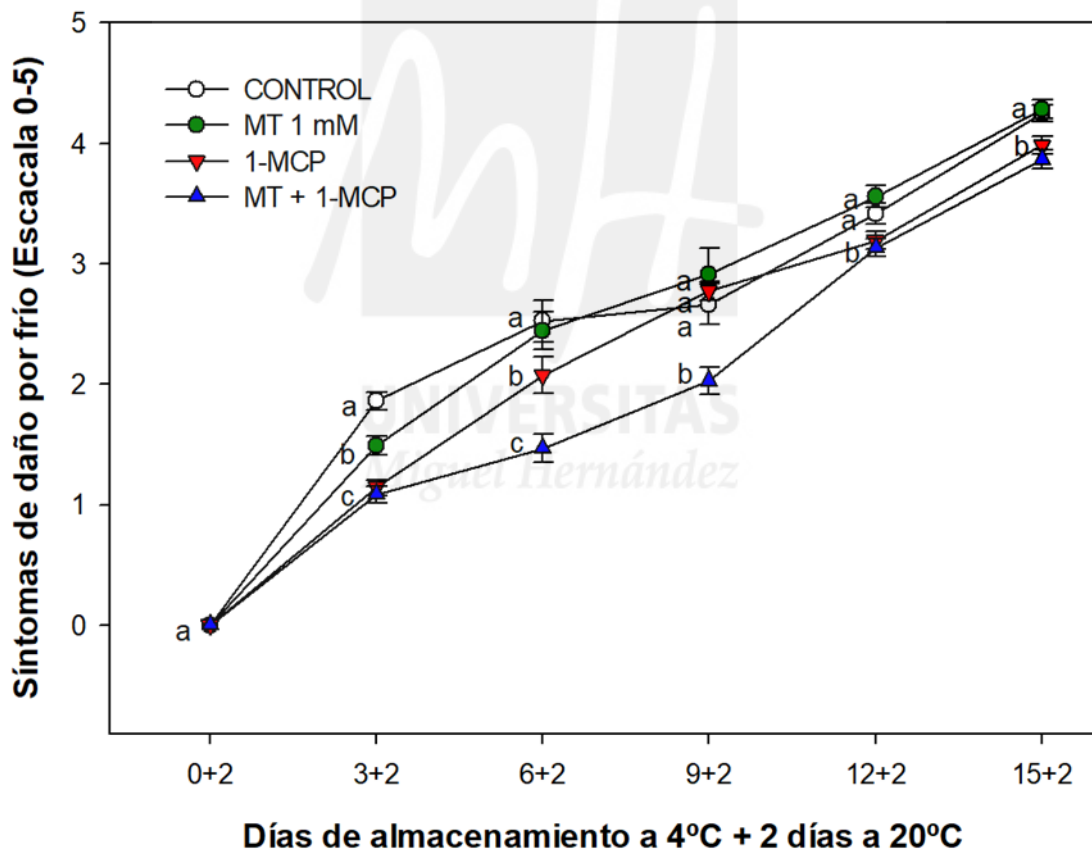


Figura18. Evolución de los daños por frío ($g\ 100\ g^{-1}$) en calabacines control y tratados con distintas dosis de 1-MCP y MT tras el almacenamiento 4 °C más dos días a 20 °C.

Cuando evaluamos la fuga de electrolitos hubo un incremento muy importante de este parámetro durante los 15 días que duró el estudio, observándose diferencias significativas entre los distintos tratamientos. La melatonina sólo afectó ligeramente a la hora de retrasar la evolución de los daños por frío. Sin embargo, el 1-MCP tuvo un efecto significativamente superior al observado por el de melatonina. A pesar de ello, únicamente cuando se aplicó la combinación de tratamientos de forma combinada se observó el mayor retraso en la evaluación de este parámetro, apreciándose diferencias significativas en general durante todo el experimento con respecto a los frutos control y a los tratamientos realizados por separado.

Almacenar calabacines a temperaturas subóptimas (por debajo de 7 °C) puede provocar un DF, caracterizados por depresiones en la superficie de la piel, que podrían ser causadas por daño en las paredes celulares o las membranas celulares (Carvajal et al., 2015; Yao et al., 2018). Por esta razón, y basándonos en nuestros resultados, proponemos que un efecto combinado de 1-MCP y melatonina que retrasa la descomposición de las paredes celulares y que podría permitir que la actividad antioxidante de la melatonina controle el DF de manera sinérgica cuando se trataron los calabacines con el tratamiento combinado.

5 Conclusiones

El estudio realizado en este Trabajo Final de Grado confirmó que la melatonina aplicada a una concentración de 1 mM como tratamiento de inmersión después de la cosecha, y combinada con 1-metilciclopropeno podría resultar en una novedosa tecnología que retrase la senescencia y reduzca los daños por frío.

Los tratamientos combinados fueron capaces de reducir el metabolismo respiratorio y mantener la firmeza de la fruta, disminuyendo la pérdida de peso. El metabolismo reducido observado por el 1-metilciclopropeno, combinado con un tratamiento de melatonina que también mostró un efecto antioxidante al reducir la acumulación de malondialdehído, fueron factores cruciales para la integridad de la membrana celular, aumentando la tolerancia al frío del calabacín.

En este sentido, los resultados sugieren que la aplicación de un tratamiento combinado basado en melatonina y 1-metilciclopropeno podría ser una herramienta prometedora para aumentar la capacidad de almacenamiento de esta fruta a bajas temperaturas.

6 Bibliografía

6.1 Referencias

1. **Ahmad, M.S.; Siddiqui, M.W., 2015.** Postharvest quality assurance of fruits: practical approaches for developing countries. New York: Springer. 265p.
2. **Arnao, M.B.; Hernández-Ruiz, J., 2019.** Melatonin: A New Plant Hormone and/or a Plant Master Regulator? *Trends Plant Sci.* 24, 38–48.
3. **Babarinde, G.O.; Fabunmi, O.A., 2009.** Effects of packaging materials and storage temperature on quality of fresh okra (*Abelmoschus esculentus*) fruit. *Agric. Trop. Subtrop.* 42, 151–156.
4. **Balandrán-Quintana, R. R.; Mendoza-Wilson, A. M.; Gardea-Bejar, A. A.; Vargas-Arispuro, I.; Martínez-Tellez, M. A. 2003.** Irreversibility of chilling injury in zucchini squash (*Cucurbita pepo* L.) could be a programmed event long before the visible symptoms are evident. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 307(3), 553e557.
5. **Bar-Yosef, A.; Alkalai-Tuvia, S.; Perzelan, Y.; Aharon, Z.; Llic', Z.; Lurie, S.; Fallik, E., 2009.** Effect of shrink packaging in combination with rinsing and brushing treatment on chilling injury and decay of sweet pepper during storage. *Adv. Hortic. Sci.* 23, 225–230.
6. **Bi, X.; Dai, Y.; Zhou, Z.; Xing, Y.; Che, Z., 2022.** Combining natamycin and 1-methylcyclopropene with modified atmosphere packaging to evaluate plum (*Prunus salicina* cv. 'Cuihongli') quality. *Postharvest Biol. Technol.* 183, 111749.
7. **Brady, C. J. 1987.** Fruit ripening. *Annual Review of Plant Physiology.* 38: 179-204.
8. **Camacho, F. 2003.** Técnicas de producción en cultivos protegidos. Tomo 2. Instituto Cajamar. Ediciones Aerotécnicas S.L. Almería.
9. **Camacho, F. 2018.** Material didáctico de Producción y Protección de Cultivos Hortícolas, 3o Ingeniería Agrícola (Hortofruticultura y Jardinería) 2018/2019. Universidad de Almería.
10. **Cao, S.; Yang, Z.; Zheng, Y., 2012.** Effect of 1-methylcyclopropene on senescence and quality maintenance of green bell pepper fruit during storage at 20 C. *Postharvest Biol. Technol.* 70, 1–6.
11. **Carrera, R.; Zapata, S.; García, A.; Aguado, E.; Reboloso, M.M.; Manzano, S.; Jamilena, M.; Valenzuela, J.L., 2016.** Efectos de los tratamientos de Metil Jasmonato y Ácido Salicílico en la calidad poscosecha y daños por frío de frutos de berenjena. *Actas Port. Hortic.* 28, 239–244.
12. **Carvajal, F.; Palma, F.; Jamilena, M.; Garrido, D., 2015.** Cell wall metabolism and chilling injury during postharvest cold storage in zucchini fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 108, 68–77.
13. **Carvajal, F.; Palma, F.; Jamilena, M.; Garrido, D., 2015.** Preconditioning treatment induces chilling tolerance in zucchini fruit improving different physiological mechanisms against cold injury. *Ann. Appl. Biol.* 166,340–354.

14. **Carvajal, F.; Martinez, C.; Jamilena, M.; Garrido, D., 2011.** Differential response of zucchini varieties to low storage temperature. *Sci. Hortic.* 130, 90–96.
15. **Chen, B.; Yang, H., 2013.** 6-Benzylaminopurine alleviates chilling injury of postharvest cucumber fruit through modulating antioxidant system and energy status. *J. Sci. Food. Agric.* 93, 1915–1921.
16. **De Bruin, W.; Rossouw, W.; Korsten, L., 2016.** Comparison of safe alternative dipping treatment to maintain quality of zucchini. *J. Food Qual.* 39, 109–115.
17. **De Ketelaere, B.; Howarth, M.S.; Crezee, L.; Lammertyn, J.; Viaene, K.; Bulens, I.; De Baerdemaeker, J., 2006.** Postharvest firmness changes as measured by acoustic and low-mass impact devices: a comparison of techniques. *Postharvest Biology and Technology* 41, 275-284.
18. **Delgado, J. 1999.** “El cultivo de calabacín en el Levante de Almería. Técnicas de producción de frutas y hortalizas en los cultivos protegidos” Instituto la Rural. 3. 55-98.
19. **Demiral, T.; Turkan, I., 2005.** Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany.* 53:247-257.
20. **Dhall, R.K.; Sharma, S.R.; Mahajan, B.V.C., 2012.** Effect of shrink wrap packaging for maintaining quality of cucumber during storage. *J. Food Sci. Technol.* 49, 495–499.
21. **Diezma-Iglesias, B.; Valero, C.; García-Ramos, F.J.; Ruiz-Altisent, M., 2006.** Monitoring of firmness evolution of peaches during storage by combining acoustic and impact methods. *Journal of Food Engineering* 77, 926-935.
22. **Dong, J.; Kebbeh, M.; Yan, R.; Huan, C.; Jiang, T.; Zheng, X., 2021.** Melatonin treatment delays ripening in mangoes associated with maintaining the membrane integrity of fruit exocarp during postharvest. *Plant Physiol. Biochem.* 169, 22–28.
23. **Du, Y.; Jin, T.; Zhao, H.; Han, C.; Sun, F.; Chen, Q.; Yue, F.; Luo, Z.; Fu, M., 2021.** Synergistic inhibitory effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) and chlorine dioxide (ClO₂) treatment on chlorophyll degradation of green pepper fruit during storage. *Postharvest Biol. Technol.* 171, 111363.
24. **Fahmy, K.; Nakano, K., 2014.** Optimal design of modified atmosphere packaging for alleviating chilling injury in cucumber fruit. *Environ. Control Biol.* 52, 233–240.
25. **Fernández-Trujillo, J.P.; Martínez, J.A., 2006.** Ultrastructure of the onset of chilling injury in cucumber fruit. *J. Appl. Bot. Food Qual.* 80, 100–110.
26. **Fung, R.W.M.; Wang, C.Y.; Smith, D.L.; Gross, K.C.; Tian, M., 2004.** MeSA and MeJA increase steady-state transcript levels of alternative oxidase and resistance against chilling injury in sweet peppers (*Capsicum annuum* L.). *Plant Sci.* 166, 711–719.
27. **Gao, H.; Kang, L.; Liu, Q.; Cheng, N.; Wang, B.; Cao, W., 2015.** Effect of 24-epibrassinolide treatment on the metabolism of eggplant fruits in relation to development of pulp browning under chilling stress. *J. Food Sci. Technol.* 52, 3394–3401.

28. **Gomes, D.A.L.; Miranda H.H.H.; Bressan, J., 2019.** Melatonin intake and potencial chronobiological effects on human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(1),133-140.
29. **González-Aguilar, G.A.; Fortiz, J.; Cruz, R.; Baez, R.; Wang, C.Y., 2000.** Methyl Jasmonate reduces chilling injury and maintains postharvest quality of mango fruit. *J. Agric. Food Chem.* 48, 515–519.
30. **Han, C.; Zuo, J.H.; Wang, Q.; Dong, H.Z.; Gao, L.P., 2017.** Salicylic acid alleviates postharvest chilling injury of sponge gourd (*Luffa cylindrica*). *J. Integr. Agric.* 16, 735–741.
31. **Han, C.; Zuo, J.; Wang, Q.; Xu, L.; Zhai, B.; Wang, Z.; Dong, H.; Gao, L., 2014.** Effects of chitosan coating on postharvest quality and shelf life of sponge gourd (*Luffa cylindrica*) during storage. *Sci. Hortic.* 166, 1–8.
32. **Ilić, Z.S.; Trajković, R.; Pavlović, R.; Alkalai-Tuvia, S.; Perzelan, Y.; Fallik, E., 2012.** Effect of heat treatment and individual shrink packaging on quality and nutritional value of bell pepper stored at suboptimal temperature. *Int. J. Food Sci. Technol.* 47, 83–90.
33. **Jannatizadeh, A.; Aghdam, M.S.; Luo, Z.; Razavi, F., 2019.** Impact of Exogenous Melatonin Application on Chilling Injury in Tomato Fruits During Cold Storage. *Food Bioprocess Tech.* 12, 741–750.
34. **Juan Luis, V.; Susana, M; Francisco, P.; Fatima, C.; Dolores, G.; Manuel, J., 2017.** Oxidative stresses associated with chilling injury in immature fruit: Postharvest technological and biotechnological solutions.
35. **Kader, A. 1992.** Postharvest Technology of Horticultural Crops. Second edition, Univ. Calif., Div. of Agr. and Nat. Resources, Publ. 3311, pp. 296.
36. **Lim, C.S.; Kang, S.M.; Cho, J.L.; Gross, K.C., 2009.** Antioxidizing enzyme activities in chilling-sensitive and chilling-tolerant pepper fruit as affected by stage of ripeness and storage temperature. *J. Am. Soc. Hortic Sci.* 134, 156–163.
37. **Liu, L.; Wei, Y.; Shi, F.; Liu, C.; Liu, X.; Ji, S., 2015.** Intermittent warming improves postharvest quality of bell peppers and reduces chilling injury. *Postharvest Biol. Technol.* 18, 18–25.
38. **Liu, R.; Gao, H.; Chen, H.; Fang, X.; Wu, W., 2019.** Synergistic effect of 1-methylcyclopropene and carvacrol on preservation of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*). *Food Chem.* 283, 588–595.
39. **Liu, Y.; Yang, X.; Zhu, S.; Wang, Y., 2016.** Postharvest application of MeJA and NO reduced chilling injury in cucumber (*Cucumis sativus*) through inhibition of H₂O₂ accumulation. *Postharvest Biol. Technol.* 119,77–83.
40. **Lurie, S., 1998.** Postharvest heat treatments. *Postharvest Biol. Technol.* 14, 257–269.
41. **Madebo, M.P.; Luo, S.M.; Wang, L.; Zheng, Y.H.; Jin, P.2021.** Melatonin treatment induces chilling tolerance by regulating the contents of polyamine, γ -aminobutyric acid, and proline in cucumber fruit. *J. Integr. Agric.* 20, 3060–3074.
42. **Mahajan, B.V.C.; Dhillon, W.S.; Sidhu, M.K.; Jindal, S.K.; Dhaliwal, M.S.; Singh, S., 2016.** Effect of packaging and storage environments on quality and shelf-life of bell pepper (*Capsicum annuum*). *Indian J. Agric. Sci.* 86, 738–742.
43. **Mao, L.-C.; Wang, G.-Z.; Zhu, C.-G.; Pang, H.-Q., 2007.** Involvement of phospholipase D and lipoxygenase in response to chilling stress in postharvest cucumber fruits. *Plant Sci.* 172, 400–405.

44. **Mao, L.; Pang, H.; Wang, G.; Zhu, C., 2007.** Phospholipase D and lipoxygenase activity of cucumber fruit in response to chilling stress. *Postharvest Biol. Technol.* 44, 42–47.
45. **Martinez-Téllez, M.; Ramos-Clamont, M.; Gardea, A.; Vargas-Arispuro, I., 2002.** Effect of infiltrated polyamines on polygalacturonase activity and chilling injury responses in zucchini squash (*Cucurbita pepo* L.). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 295, 98–101.
46. **Massolo, J.F.; Concellón, A.; Chaves, A.R.; Vicente, A.R., 2011.** 1-Methylcyclopropene (1-MCP) delays senescence, maintains quality and reduces browning of non-climacteric eggplant (*Solanum melongena* L.) fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 59, 10–15.
47. **Massolo, J.F.; Lemoine, M.L.; Chaves, A.R.; Concellón, A.; Vicente, A.R., 2014.** Benzyl-aminopurine (BAP) treatments delay cell wall degradation and softening, improving quality maintenance of refrigerated summer squash. *Postharvest Biol. Technol.* 93, 122–129.
48. **McCollum, T.G.; Doostdar, H.; Mayer, R.T.; McDonald, R.E., 1995.** Immersion of cucumber fruit in heated water alters chilling-induced physiological changes. *Postharvest Biol. Technol.* 6, 55–64.
49. **Megías, Z.; Martínez, C.; Manzano, S.; Barrera, A.; Rosales, R.; Valenzuela, J.L.; Garrido, D.; Jamilena, M., 2014.** Cold-induced ethylene in relation to chilling injury and chilling sensitivity in the non-climacteric fruit of zucchini (*Cucurbita pepo* L.). *LWT Food Sci. Technol.* 57, 194–199.
50. **Megías, Z.; Martínez, C.; Manzano, S.; Garcia, A.; del Mar, R.-F.M.; Garrido, D.; Valenzuela, J.L.; Jamilena, M., 2015.** Individual shrink wrapping of zucchini fruit improves postharvest chilling tolerance associated with a reduction in ethylene production and oxidative stress metabolites. *PLoS ONE*, 10, e0133058.
51. **Megías, Z.; Martínez, C.; Manzano, S.; Garcia, A.; del Mar, R.-F.M.; Valenzuela, J.L.; Garrido, D.; Jamilena, M., 2016.** Ethylene biosynthesis and signaling elements involved in chilling injury and other postharvest quality traits in the non-climacteric fruit of zucchini (*Cucurbita pepo*). *Postharvest Biol. Technol.* 113, 48–57.
52. **Molla, S.M.; Rastegar, S.; Omran, V.G.; Khademi, O., 2022.** Ameliorative effect of melatonin against storage chilling injury in pomegranate husk and arils through promoting the antioxidant system. *Sci. Hort.* 295, 110889.
53. **Palma, F.; Carvajal, F.; Lluch, C.; Jamilena, M.; Garrido, D., 2014.** Changes in carbohydrate content in zucchini fruit (*Cucurbita pepo* L.) under low temperature stress. *Plant Sci.* 217, 78–86.
54. **Palma, F.; Carvajal, F.; Ramos, J.M.; Jamilena, M.; Garrido, D., 2015.** Effect of putrescine application on maintenance of zucchini fruit quality during cold storage: Contribution of GABA shunt and other related nitrogen metabolites. *Postharvest Biol. Technol.* 99, 131–140.
55. **Pandi-Perumal, S.R.; Srinivasan, V.; Maestroni, G.J.M.; Cardinali, D.P.; Poeggeler, B.; Hardeland, R., 2006.** Melatonin- Nature's most versatile biological signal. *FEBS Journal*, 273 (13), 2813-2838.
56. **Paniagua, C., Posé, S., Morris, V.J., Kirby, A.R., Quesada, M.A. y Mercado, J.A., 2014.** Fruit softening and pectin disassembly: an overview of nanostructural

- pectin modifications assessed by atomic force microscopy. *Annals of Botany*. 114, 1375-1383.
57. **Paris, H.S., 2001.** History of the cultivar-groups of *Cucurbita pepo*. *Horticultural Reviews.*, 25: 71-170.
 58. **Perkins-Veazie, P., 2016.** Okra. In *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*; Gross, K.C., Wang, C.Y., Salveit, M., Eds.; USDA Agricultural Research Service: Beltsville, MD, USA; pp. 430–432.
 59. **Purvis, A.C., 2002.** Diphenylamine reduces chilling injury of green bell pepper fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 25, 41–48.
 60. **Purvis, A.C., 1997.** Role of the alternative oxidase in limiting superoxide production by plant mitochondria. *Physiol. Plant.* 100, 165–170.
 61. **Rajasree, R.S.; Sibi, P.I.; Femi, F.; William, H., 2016.** Phytochemicals of Cucurbitaceae family, a review. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 8, 113-123.
 62. **Randel, R. D.; R. C. Rhodes, 1980.** The effect of dietary monensin on the luteinizing hormone response of prepuberal heifers given a multiple gonadotropin-releasing hormone challenge. *J. Anim. Sci.* 51:925.
 63. **Rao, D.S.; Rao, K.G.; Krishnamurthy, S., 2000.** Extension of shelf life of cucumber by modified atmosphere packaging (MAP) and shrink wrapping. *Indian Food Pack.* 54, 65–71.
 64. **Reche, J. 1997.** Cultivo de calabacín en invernadero. Colegio Oficial de Ingenieros Técnicos Agrícolas de Almería, pp: 35-37.
 65. **Robinson, R.W.; Decker, D.S., 2004.** Cucurbits, *Crop Production Science in Horticulture*, 6, CABI Publishing, Wallingford, 226 p.
 66. **Rodriguez, S. C.; López, B.; Chavez, A.R., 2001.** Effect of different treatments on the evolution of polyamines during refrigerated storage of eggplants. *J. Agric. Food Chem.* 49, 4700–4705.
 67. **Rosales, R., 2007.** Caracterización del proceso de absorción floral en *Cucurbita pepo*. Universidad de Granada. Ed. de la Universidad de Granada. Memoria tesis doctoral 207 pp
 68. **Ruiz, J. J.; Nuez, F.; Llacer, G., 2000.** «Calabacín»; Coord.: La horticultura Española. Sociedad Española de las Ciencias Hortícolas; pp. 119-122.
 69. **Sahoo, N.R.; Bal, L.M.; Pal, U.S.; Sahoo, D. A., 2014.** Comparative study on the effect of packaging material and storage environment on shelf life of fresh bell-pepper. *J. Food Meas Charact.* 8, 164–170.
 70. **Salveit, M.E., 2016.** Cucumber. In *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*; Gross, K.C., Wang, C.Y., Salveit, M., Eds.; USDA Agricultural Research Service: Beltsville, MD, USA; pp. 302–304.
 71. **Serrano, M.; Martínez-Madrid, M.C.; Pretel, M.T.; Riquelme, F.; Romojaro, F., 1997.** Modified Atmosphere Packaging minimizes increases in putrescine and abscisic acid levels caused by chilling injury in pepper fruit. *J. Agric. Food Chem.* 45, 1668–1672.
 72. **Serrano, M.; Pretel, M.T.; Martínez-Madrid, M.C.; Romojaro, F.; Riquelme, F., 1998.** CO₂ treatment of zucchini squash reduces chilling-induced physiological changes. *J. Agric. Food Chem.* 46, 2465–2468.

73. **Sevillano, L.; Sanchez-Ballesta, M. T.; Romojaro, F.; Flores, F. B., 2009.** Physiological, hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species. postharvest technologies applied to reduce its impact. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(4), 555e573.
74. **Shelp, B.J.; Bown, A.W.; McLean, M.D., 1999.** Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. *Trends in plant science*. 4(11), 1360-1385.
75. **Shewfelt, R. L., 1986.** Postharvest treatment for extending the shelf-life of fruits and vegetables. *Food Technol.* 40(5):70-89.
76. **Shi, J.Y.; Gao, L.P.; Zuo, J.H.; Wang, Q.; Wang, Q.; Fang, L., 2016.** Effect of exogenous ceramide treatment on chilling tolerance in green bell pepper fruits. *Mod. Food Sci. Technol.* 32, 164–170.
77. **Smith, B.D., 1997.** The initial domestication of *Cucurbita pepo* in the Americas 10,000 years ago. *Science* 276: 932-934.
78. **Soegiarto, L.; Wills, R.B.H., 2004.** Short term fumigation with nitric oxide gas in air to extend the postharvest life of broccoli, green bean, and bok choy. *Horttechnology* 14, 538–540.
79. **Suslow, T.V., 2014.** Cantwell, M. Squash (soft rind): recommendations for maintaining postharvest quality.
80. **Stevens, P.F., 2009.** Angiosperm Phylogeny Website.
81. **Valero, D.; Serrano, M., 2010.** Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality, CRC Press/Taylor Francis: Boca Raton, FL, USA.
82. **Vallés, M.; Bruna, P.; Guitierrez, M., 2006.** “El cultivo del calabacín en Aragón. Estudio de variedades con destino industrial”. *Informaciones técnicas.* Gobierno de Aragón. 2-11.
83. **Wang, B.; Zhu, S., 2017.** Pre-storage cold acclimation-maintained quality of cold-stored cucumber through differentially and orderly activating ROS scavengers. *Postharvest Biol. Technol.* 129, 1–8.
84. **Wang, C.Y.; Adams, D.O., 1982.** Chilling-induced ethylene production in cucumbers (*Cucumis sativus* L.). *Plant Physiol.* 69, 424–427.
85. **Wang, C. Y., 1994.** Combined treatment of heat shock and low temperature conditioning reduces chilling injury in zucchini squash. *Postharvest Biology and Technology*, 4, 65e73.
86. **Wang, C.Y., 1991.** Effect of abscisic acid on chilling injury of zucchini squash. *J. Plant Growth Regul.* 10, 101–105.
87. **Wang, C.Y., 1995.** Effect of temperature preconditioning on catalase, peroxidase, and superoxide dismutase in chilled zucchini squash. *Postharvest Biol. Technol.* 5, 67–76.
88. **Wang, C.Y.; Ji, Z.L., 1989.** Effect of low-oxygen storage on chilling injury and polyamines in zucchini squash. *Sci. Hortic.* 39, 1–7.
89. **Wang, C.Y., 1982.** Physiological and biochemical responses of plants to chilling stress. *HortScience* 17: 173-186.
90. **Wang, C.Y., 1991.** Reduction of chilling injury in fruits and vegetables. *Postharvest News Inform.* 3: 165-168.
91. **Wang, C.Y., 2000.** Postharvest techniques for reducing low temperature injury in chilling-sensitive commodities. En: *Improving Postharvest Technologies for*

- Fruits, Vegetables and Ornamentals. Edit. Intern. Institute of Refrigeration. Eds: F. Artés, M.I. Gil y M.A. Conesa. II: 467-473.
92. **Wang, L.; Li, Q.; Cao, J.; Cai, T.; Jiang, W., 2007.** Keeping quality of fresh-cut bitter melon (*Momordica charantia* L.) at low temperature of storage. *J. Food Process. Preserv.* 31, 571–582.
 93. **Wang, Q.; Ding, T.; Zuo, J.; Gao, L.; Fan, L., 2016.** Amelioration of postharvest chilling injury in sweet pepper by glycine betaine. *Postharvest Biol. Technol.* 112, 114–120.
 94. **Wang, Q.; Ding, T.; Gao, L.; Pang, J.; Yang, N., 2012.** Effect of brassinolide on chilling injury of green bell pepper in storage. *Sci. Hortic.* 144, 195–200.
 95. **Wang, S.Y.; Shi, X.C.; Wang, R.; Wang, H.L.; Liu, F.; Laborda, P., 2020.** Melatonin in fruit production and postharvest preservation: A review. *Food Chem.* 320, 126642.
 96. **Wang, S.Y.; Shi, X.C.; Wang, R.; Liu, F.; Laborda, P., 2020.** Melatonin in fruit production and postharvest preservation: A review. *Food Chemistry.* 320,126642.
 97. **Wei, L.; Liu, C.; Wang, J.; Younas, S.; Zheng, H.; Zheng, L., 2020.** Melatonin immersion affects the quality of fresh-cut broccoli (*Brassica oleracea* L.) during cold storage: Focus on the antioxidant system. *J. Food Process. Preserv.* 44, e14691.
 98. **Xu, F.; Liu, S., 2017.** Control of postharvest quality in blueberry fruit by combined 1-methylcyclopropene (1-MCP) and UV-C irradiation. *Food Bioprocess Technol.* 10, 1695–1703.
 99. **Yang, H.; Wu, F.; Cheng, J., 2011.** Reduced chilling injury in cucumber by nitric oxide and the antioxidant response. *Food Chem.* 127, 1237–1242.
 100. **Yao, W.; Xu, T.; Farooq, U.; Jin, P.; Zheng, Y., 2018.** Glycine betaine treatment alleviates chilling injury in zucchini fruit (*Cucurbita pepo* L.) by modulating antioxidant enzymes and membrane fatty acid metabolism. *Postharvest Biol. Technol.* 144, 20–28.
 101. **Yi Wang, C., 1994.** Combined treatment of heat shock and low temperature conditioning reduces chilling injury in zucchini squash. *Postharvest Biol. Technol.* 4, 65–73.
 102. **Zhang, M.; Liu, W.; Li, C.; Shao, T.; Jiang, X.; Zhao, H.; Ai, W. 2019.** Postharvest hot water dipping and hot water forced convection treatments alleviate chilling injury for zucchini fruit during cold storage. *Scientia Horticulturae*, 249, 219–227.
 103. **Zhang, Y.; Zhang, M.; Yang, H., 2015.** Postharvest chitosan-g-salicylic acid application alleviates chilling injury and preserves cucumber fruit quality during cold storage. *Food Chem.* 174, 558–563.
 104. **Zheng, Y.; Fung, R.W.M.; Wang, S.Y.; Wang, C.Y., 2008.** Transcript levels of antioxidative genes and oxygen radical scavenging enzyme activities in chilled zucchini squash in response to super atmospheric oxygen. *Postharvest Biol. Technol.* 47, 151–158.

6.2 Páginas web consultadas

MAPAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente), Anuario de Estadística. www.mapa.gob.es .Consulta agosto de 2023.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), <http://www.fao.org>. Consulta Agosto de 2023.

ISO (Organización Internacional de Normalización), <https://www.iso.org> Consulta Agosto de 2023.

