



REVISTA CHAPINGO SERIE
HORTICULTURA

ISSN: 1027-152X

chapingo.horticultura@gmail.com

Universidad Autónoma Chapingo
México

Sandoval-Chávez, Rocío Aurora; Martínez-Peniche, Ramón Álar; Hernández-Iturriaga, Montserrat; Teixidó-Espasa, Neus; Usall-Rodié, Josep; Viñas-Almenar, Inmaculada; Torres-Sanchis, Rosario

Mechanisms of resistance in postharvest fruit-pathogen interaction

REVISTA CHAPINGO SERIE HORTICULTURA, vol. XXI, núm. 3, octubre, 2015, pp. 185-198

Universidad Autónoma Chapingo
Chapingo, México

Available in: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=60943322001>

- How to cite
- Complete issue
- More information about this article
- Journal's homepage in redalyc.org

redalyc.org

Scientific Information System

Network of Scientific Journals from Latin America, the Caribbean, Spain and Portugal

Non-profit academic project, developed under the open access initiative

Mechanisms of resistance in postharvest fruit-pathogen interaction

Mecanismos de resistencia en la interacción fruto-patógeno en poscosecha

Rocío Aurora Sandoval-Chávez¹; Ramón Álar Martínez-Peniche^{1*}; Montserrat Hernández-Iturriaga¹; Neus Teixidó-Espasa²; Josep Usall-Rodié²; Inmaculada Viñas-Almenar³; Rosario Torres-Sanchis²

¹Cuerpo Académico de Inocuidad Microbiana de los Alimentos, DIPa, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro. Cerro de las Campanas s/n, col. las Campanas, Querétaro, Querétaro, C.P. 76010, MÉXICO. Correo-e: alvar@uaq.mx, teléfono: 442 192 13 04 (*Autor para correspondencia).

²Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries, XaRTA-Postharvest, Rovira Roure 191, 25198 Lleida, Catalonia, ESPAÑA.

³Food Technology Department, Lleida University, XaRTA-Postharvest, Agrotecnio Center. Rovira Roure 191, 25198 Lleida, Catalonia, ESPAÑA.

Abstract

The objective of this review was to bring together concepts related to studies aimed at elucidating defense mechanisms against disease-causing agents, mainly in postharvest. Like plants, fruits are exposed to attack by pathogens that cause rot during postharvest storage, resulting in considerable losses. To control these pathogens, synthetic chemicals are used; however, since they are toxic, genetic resistance is regarded as a viable alternative. Fruits can withstand pathogens by means of physical barriers (presence of thick cuticular or trichome layers) and chemical ones, or through induced defenses that are activated once the host detects the presence of the pathogen, triggering the oxidative burst during the early hours of interaction. This burst entails the generation of reactive oxygen species (ROS), such as superoxide (O_2^-), hydroxyl radical (OH^\cdot) or hydrogen peroxide (H_2O_2), and the activation of genes involved in several metabolic pathways. The study of such mechanisms may allow detecting disease-resistant genetic materials, thus reducing the use of toxic products.

Keywords: constitutive defenses, induced defenses, postharvest diseases, phytopathogen, defense mechanisms.

Resumen

El objetivo de esta revisión fue conjuntar conceptos relacionados con estudios dirigidos a elucidar los mecanismos de defensa contra agentes causantes de enfermedades, principalmente en poscosecha. Al igual que las plantas, los frutos se encuentran expuestos al ataque por patógenos que producen podredumbres durante su almacenamiento en poscosecha, causando considerables pérdidas. Para el control de dichos patógenos, se emplean productos químicos de síntesis que son tóxicos, y la resistencia genética se considera una alternativa viable. Los frutos pueden tolerar a los patógenos mediante barreras físicas (presencia de capas gruesas de cutícula o de tricomas) y químicas, o bien, a través de defensas inducidas que se activan una vez que el huésped detecta la presencia del patógeno, desencadenando la explosión oxidativa durante las primeras horas de la interacción. Esta explosión conlleva la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) como el superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo (OH^\cdot) o el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), y la activación de genes involucrados en diversas rutas metabólicas. El estudio de tales mecanismos puede permitir detectar materiales genéticos resistentes a enfermedades, reduciendo así el uso de productos tóxicos.

Palabras clave: defensas constitutivas, defensas inducidas, enfermedades de poscosecha, fitopatógeno, mecanismos de defensa.

Please cite this article as follows (APA 6): Sandoval-Chávez, R. A., Martínez-Peniche, R. Á., Hernández-Iturriaga, M., Teixidó-Espasa, N., Usall-Rodié, J., Viñas-Almenar, I., & Torres-Sanchis, R. (2015). Mechanisms of resistance in postharvest fruit-pathogen interaction, Mexico. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 21(3), 185-198. doi: 10.5154/r.rchsh.2014.11.050

Received: November 28, 2014 / Accepted: August 12, 2015.



Revista Chapingo
Serie Horticultura

www.chapingo.mx/revistas/horticultura

Introduction

Plants carry out physiological processes necessary for their survival, including cell division and elongation, differentiation and development, absorption and translocation of water and minerals from the soil, synthesis, degradation and storage of organic compounds and reproduction. When one of these functions is disrupted, either by phytopathogens or certain environmental conditions, a disease is generated (Agrios, 2007).

As in plants, the presence of pathogens in fruits causes considerable postharvest losses. However, they have different protective barriers, which may be intrinsic or develop once they detect the presence of a pathogen (Ferreira et al., 2006).

Phytopathogenic fungi are a very diverse group of heterotrophic nutrition organisms, which require a number of virulence factors that enable them to cause infection, such as possessing penetration structures (appresoria) and producing hydrolytic enzymes that degrade the cell wall of fruits, among others (Prusky, Mcevoy, Saftner, Conway, & Jones, 2004). The main method of controlling these fungi in postharvest has been the use of fungicides, which have been restricted because of their toxicity, so alternative methods such as the use of resistant varieties are being sought (Janisiewicz, Saftner, Conway, & Forsline, 2008; Jurick et al., 2011).

In this sense, the study of fruit defense mechanisms could allow the detection of resistant genotypes, as well as the exogenous application or induction of compounds that naturally reduce postharvest diseases. Therefore, the aim of this review was to bring together concepts related to research aimed at elucidating the mechanisms of protection against disease-causing agents, especially in post-harvest, which is of great importance because it is an emerging area of knowledge.

Postharvest fruit diseases

In Plant Pathology, diseases produced in fruits are called "rot" and the fungi which cause them are called "pathogens." In the postharvest period, these alterations cause deterioration of the fruit from harvesting until being consumed or processed (Viñas, Abadías, Teixidó, Usall, & Torres, 2013). Losses due to postharvest diseases have been estimated at around 20 % in developed countries, and up to 50 % in developing countries (Janisiewicz & Korsten, 2002).

Disease development

Like plants, fruits are in contact with a myriad of microorganisms found in the environment; however, in order for the disease to develop, the host must be susceptible to a virulent pathogen and

Introducción

Las plantas llevan a cabo procesos fisiológicos necesarios para su supervivencia, que incluyen la división y alargamiento celular, la diferenciación y desarrollo, la absorción y translocación de agua y minerales del suelo, la síntesis, degradación y almacenamiento de compuestos orgánicos y la reproducción. Cuando una de estas funciones se altera, ya sea por fitopatógenos o por determinadas condiciones del medio, se genera una enfermedad (Agrios, 2007).

Así como en las plantas, la presencia de patógenos en los frutos causa considerables pérdidas en poscosecha. Sin embargo, éstos cuentan con diferentes barreras de protección que pueden ser intrínsecas o desarrollarse una vez que detectan la presencia de algún patógeno (Ferreira et al., 2006).

Los hongos fitopatógenos son un grupo de organismos muy diverso, de nutrición heterótrofa, que requieren una serie de factores de virulencia que los capacite para causar infecciones; como el poseer estructuras de penetración (apresorios) y producir enzimas hidrolíticas que degradan la pared celular de los frutos, entre otros (Prusky, Mcevoy, Saftner, Conway, & Jones, 2004). El principal método de control de estos hongos en poscosecha ha sido el uso de fungicidas, mismos que se han restringido debido a su toxicidad, por lo que se buscan métodos alternativos tal como el empleo de variedades resistentes (Janisiewicz, Saftner, Conway, & Forsline, 2008; Jurick et al., 2011).

En este sentido, el estudio de los mecanismos de defensa de los frutos podría permitir la detección de genotipos resistentes; así como la aplicación exógena o inducción de compuestos que disminuyan de manera natural las enfermedades en poscosecha. Por lo anterior, el objetivo de esta revisión fue conjuntar conceptos relacionados con investigaciones dirigidas a elucidar los mecanismos de protección contra agentes causantes de enfermedades, principalmente en poscosecha, lo que resulta de gran importancia por tratarse de un área emergente del conocimiento.

Enfermedades de frutos en poscosecha

En Patología Vegetal, las enfermedades producidas en los frutos se denominan "podredumbres", y los hongos causantes de éstas se llaman "patógenos". En el caso particular de poscosecha, estas alteraciones provocan el deterioro de la fruta desde la recolección hasta antes de ser consumida o procesada (Viñas, Abadías, Teixidó, Usall, & Torres, 2013). Las pérdidas por enfermedades en poscosecha han sido estimadas en alrededor de 20 % en países desarrollados, y hasta en 50 % en países en vías de desarrollo (Janisiewicz & Korsten, 2002).

the environment must be conducive to the infection (Ferreira et al., 2006).

Listed below are the stages of postharvest disease development (Figure 1) according to Viñas et al. (2013): 1) contamination, the inoculum reaches the host, usually by the spreading of spores; 2) penetration, the pathogen enters through the tissue of the host by means of penetration structures, specialized enzymes or wounds; 3) infection, the process by which the pathogen comes in contact with the cells of the host which it later feeds on; 4) incubation, the time between infection and the appearance of disease symptoms; 5) diffusion or invasion, the pathogen extends beyond the colonized tissues; 6) reproduction and dissemination, the pathogen colonizes new tissues and forms resistance structures, and 7) survival, the resistance structures formed remain in the environment until finding conditions conducive to infect new hosts.

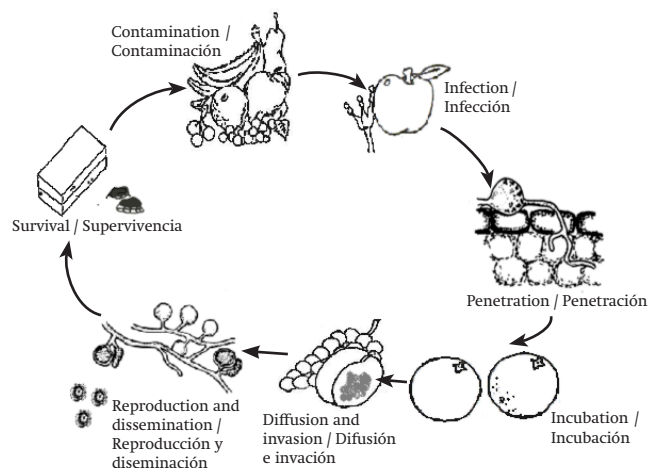


Figure 1. Stages of fungal disease development adapted for postharvest fruits (adapted from Viñas et al., 2013).

Figura 1. Etapas del desarrollo de enfermedades fúngicas adaptadas para frutos en poscosecha (adaptada de Viñas et al., 2013).

As mentioned above, not all pathogens cause disease. This inability is because, in many cases, fruits have different defense mechanisms: a) constitutive or non-induced, which involve intrinsic factors that can foster a hostile environment for pathogens, and b) activated or induced, including pathogen recognition by the fruit and activation of different biochemical pathways to counteract the infection (Wood, 2012).

Constitutive or non-induced defenses

These defenses can be divided into two categories: a) structural, involving physical barriers able to stop the spread of pathogens, such as the presence of thick epidermal layers composed of cutin and waxes, or

Desarrollo de la enfermedad

Al igual que las plantas, los frutos están en contacto con un sinnúmero de microorganismos que se encuentran en el ambiente; sin embargo, para que la enfermedad se desarrolle, el huésped debe ser susceptible a un patógeno virulento y el ambiente debe favorecer la infección (Ferreira et al., 2006).

A continuación se mencionan las etapas de desarrollo de las enfermedades en poscosecha (Figura 1) de acuerdo con Viñas et al. (2013): 1) contaminación, el inóculo llega al huésped, generalmente mediante la diseminación de esporas; 2) penetración, el patógeno entra a través del tejido del huésped por medio de estructuras de penetración, enzimas especializadas o por heridas; 3) infección, es el proceso en que el patógeno entra en contacto con las células del huésped de las que posteriormente va a alimentarse; 4) incubación, es el tiempo transcurrido entre la infección y la aparición de síntomas de la enfermedad; 5) difusión o invasión, el patógeno se extiende más allá de los tejidos colonizados; 6) reproducción y diseminación, el patógeno coloniza nuevos tejidos y forma estructuras de resistencia, y 7) supervivencia, las estructuras de resistencia formadas se mantienen en el medio hasta encontrar condiciones propicias para infectar nuevos hospedadores.

Como se mencionó anteriormente, no todos los patógenos provocan enfermedades. Esta incapacidad se debe, en muchos casos, a que los frutos cuentan con diferentes mecanismos de defensa: a) constitutivas o no inducidas, que implican factores intrínsecos que pueden propiciar un ambiente hostil para los patógenos, y b) activadas o inducidas, que incluyen el reconocimiento del patógeno por el fruto y la activación de diferentes rutas bioquímicas para contrarrestar la infección (Wood, 2012).

Defensas constitutivas o no inducidas

Este tipo de defensas puede dividirse en: a) estructurales, suponen barreras físicas capaces de detener el avance de los patógenos, como la presencia de capas gruesas de epidermis formadas por cutina y ceras, o de tricomas, entre otros (Wood, 2012); b) químicas, consisten en la presencia de compuestos tóxicos que se encuentran en su forma activa; tales como alcaloides, fenoles, polifenoles, aceites esenciales, terpenos, etc. Algunos ejemplos de éstas son la concentración de taninos en la nuez pecanera 'Wichita' que la hace más resistente a *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* (Vázquez, Martínez, & Fernández, 2001), el 5-*n*-pentadecil resorcinol y 5-*n*-heptadecenil resorcinol encontrados en variedades de mango como factores de resistencia a la antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (Hassan, Dann, Irving, & Coates, 2007), o bien, la presencia de mayor

trichomes, among others (Wood, 2012); b) chemical, consisting of the presence of toxic compounds found in their active form, such as alkaloids, phenols, polyphenols, essential oils, terpenes, etc. Examples include the tannin concentration in the 'Wichita' pecan nut, which makes it more resistant to *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* (Vázquez, Martínez, & Fernández, 2001), 5-*n*-pentadecylresorcinol and 5-*n*-heptadecenylresorcinol found in varieties of mango as resistance factors to anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Hassan, Dann, Irving, & Coates, 2007), or the presence of a greater amount of phenolic compounds in immature chilli (*Capsicum annuum* L.) fruits compared with ripe fruits, which makes them less susceptible to *C. capsici* and *Alternaria alternata* (Anand, Bhaskaran, Raguchander, Samiyappan, Prakasam, & Gopalakrishnan, 2009).

In the case of physical barriers, it is assumed that fruits can be more or less susceptible to both biotic and abiotic stresses depending on factors such as size, shape, firmness, epicarp resistance, presence of stomata, osmotic concentration or growth stage of the fruit (Khadivi-Khub, 2014). In olive, differences in the thickness of the cuticular membrane were observed among different varieties (*Gentile di Chieti* with 17.04 μm vs *Intosso* with 8.46 μm); it was also noted that epicarp thickness decreased during the ripening process (Lanza & Di Serio, 2015). Guan et al. (2015) conducted a study with different varieties of apple inoculated with *Botryosphaeria dothidea*, and found a negative correlation between lesion size and the cuticular thickness of the fruit, meaning the greater the cuticular thickness the lesser the pathogen development. They also noted that natural openings are a determining factor in the susceptibility of apples to *B. dothidea*. Despite these important factors, pathogens are, in most cases, able to overcome such barriers, which is why alternative control methods are used.

Activated or induced defenses

The most common form of activated defense is called horizontal or non-specific resistance (also known as "nonhost," polygenic or quantitative); in this, the pathogen is unable to produce disease in a host because the latter is immune to all races pathogen, and the resistance is controlled by several genes (Nürberger & Lipka, 2005). This type of resistance has been classified into two types (Mysore & Ryu, 2004). In Type 1, necrosis does not occur in the cells, since the pathogen is unable to overcome the defense mechanisms such as the expression of genes encoding pathogenesis-related proteins (PRs), and components of systemic acquired response (SAR) that are induced by the pathogen elicitors (Figure 2A). In Type 2, the pathogen is able to overcome the host's protective responses, probably due to the production of detoxification enzymes, resulting

cantidad de compuestos fenólicos en chiles (*Capsicum annuum* L.) inmaduros en comparación con frutos maduros, que los hace menos susceptibles a *C. capsici* y *Alternaria alternata* (Anand, Bhaskaran, Raguchander, Samiyappan, Prakasam, & Gopalakrishnan, 2009).

En el caso de las barreras físicas, se supone que los frutos pueden ser más o menos susceptibles a estreses tanto bióticos como abióticos dependiendo de factores como forma, tamaño, firmeza, resistencia del epicarpio, presencia de estomas, concentración osmótica o etapa de crecimiento de la fruta (Khadivi-Khub, 2014). En oliva se observaron diferencias en el grosor de la membrana cuticular entre diferentes variedades (*Gentile di Chieti* con 17.04 μm vs *Intosso* con 8.46 μm); además se notó que el grosor del epicarpio decreció durante el proceso de maduración (Lanza & Di Serio, 2015). Guan et al. (2015) realizaron un estudio con diferentes variedades de manzana inoculadas con *Botryosphaeria dothidea*, y observaron una correlación negativa entre el tamaño de la lesión y el grosor de la cutícula de la fruta; lo que significa que, si hay un mayor grosor, el desarrollo del patógeno es menor. Asimismo, observaron que las aberturas naturales son un factor determinante en la susceptibilidad de las manzanas a *B. dothidea*. A pesar de estos factores de importancia, en la mayoría de los casos, los patógenos logran vencer tales barreras, por lo que se recurre a métodos de control alternos.

Defensas activadas o inducidas

La forma más común de defensas activadas es la denominada resistencia horizontal o no específica (también conocida como "no-huésped", poligénica o cuantitativa); en ésta, el patógeno es incapaz de producir enfermedad en algún huésped debido a que este último es inmune a todas las razas del mismo, y la resistencia es controlada por diversos genes (Nürberger & Lipka, 2005). Este tipo de resistencia se ha clasificado en dos tipos (Mysore & Ryu, 2004). En la Tipo 1 no se presenta necrosis en las células, ya que el patógeno no es capaz de superar los mecanismos de defensa como la expresión de genes que codifican para proteínas relacionadas con la patogénesis (del inglés PR-proteins), y los componentes de la respuesta sistémica adquirida (SAR) que son inducidos por elicitores del patógeno (Figura 2A). En la Tipo 2, el patógeno es capaz de superar las respuestas de protección del huésped, probablemente gracias a la producción de enzimas de detoxificación, dando lugar a la necrosis localizada (Figura 2B). Por su parte, el huésped reconoce elicitores específicos del patógeno y activa defensas que conducen a la respuesta hipersensible (HR) (Figura 2B).

Otro tipo de resistencia es la vertical o específica (modelo gen-gen), basada en el reconocimiento genético e interacción entre el producto de un gen de avirulencia (AVR) en el patógeno y un gen de resistencia (R) en la

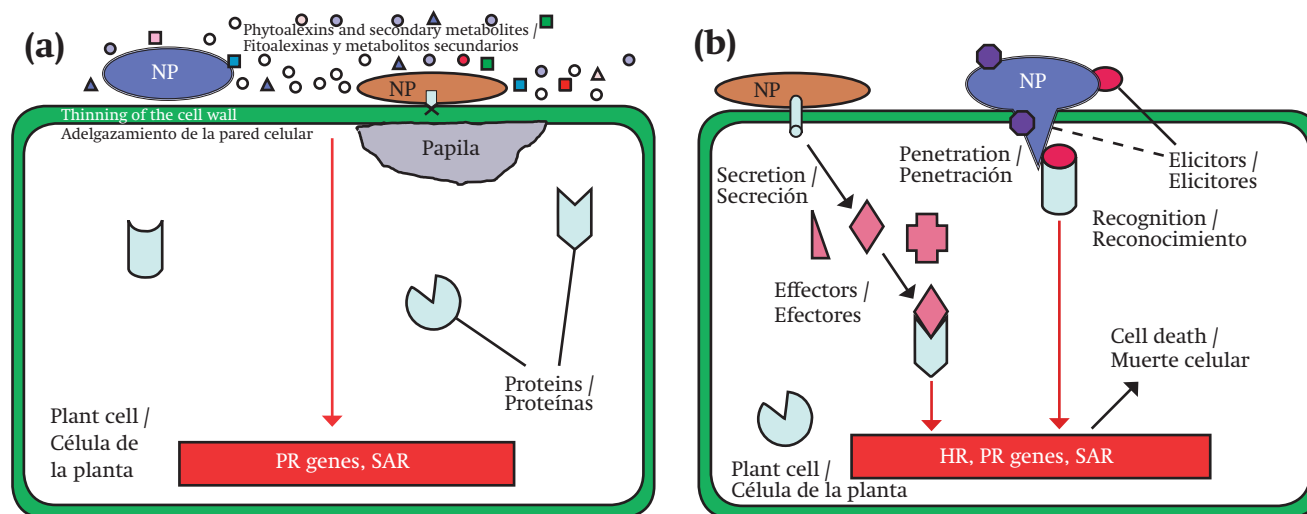


Figure 2. Type I and Type II “nonhost” resistance. NP blue: fungus; NP brown: bacteria. a) Type I resistance: the pathogen does not overcome defenses, b) Type II resistance: the pathogen overcomes host defenses (adapted from Mysore & Ryu, 2004).

Figura 2. Resistencia “no-huésped” Tipo I y Tipo II. NP color azul: hongo; NP color café: bacteria. a) Resistencia Tipo I: el patógeno no sobrepasa las defensas, b) resistencia Tipo II: el patógeno supera las defensas del huésped (adaptado de Mysore & Ryu, 2004).

in localized necrosis (Figure 2B). For its part, the host recognizes specific pathogen elicitors and activates defenses that lead to the hypersensitive response (HR) (Figure 2B).

Another type of resistance is the vertical or specific kind (gene-gene model), based on the genetic recognition and interaction between the product of an avirulence (AVR) gene in the pathogen and a resistance (R) gene in the plant or fruit. When this event occurs, it is called an *incompatible interaction*. It is important to note that the host will only be resistant to pathogens that are carriers of the AVR gene. On the contrary, when the pathogen is capable of causing infection in the host it is known as a *compatible interaction* (Elvira,

planta o fruto. Cuando ocurre este evento se denomina *interacción incompatible*. Es importante tener en cuenta que el huésped sólo será resistente a los patógenos que sean portadores del gen AVR. Por el contrario, cuando el patógeno es capaz de causar infección en el huésped se conoce como *interacción compatible* (Elvira, Molina, Gilardi, García-Luque, & Serra, 2008). La resistencia o susceptibilidad depende del tiempo que tarde el huésped en reconocer al patógeno y la rapidez con la que active sus mecanismos de defensa (Boller & Yang, 2009) (Figura 3).

Otra teoría más reciente incluye un modelo “zigzag” que dice que la amplitud de la resistencia o susceptibilidad es proporcional a PTI - ETS + ETI, y se

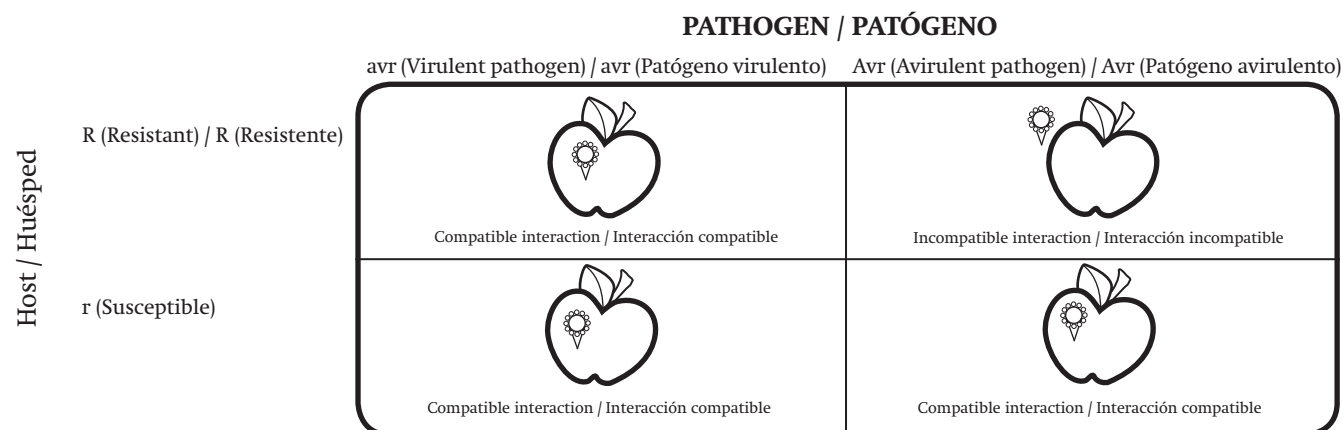


Figure 3. Adaptation of the gene-gene model to compatible and incompatible interactions in postharvest infections (adapted from Madriz, 2002).

Figura 3. Adaptación del modelo gen-gen a interacciones compatible e incompatible en infecciones en poscosecha (adaptado de Madriz, 2002).

Molina, Gilardi, García-Luque, & Serra, 2008). The resistance or susceptibility depends on the time it takes for the host to recognize the pathogen and the speed with which it activates its defense mechanisms (Boller & Yang, 2009) (Figure 3).

Another more recent theory includes a “zigzag” model, which holds that the amplitude of the resistance or susceptibility is proportional to PTI - ETS + ETI, and is carried out in four phases: 1) in the first, the plant detects a series of PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) through PRRs (pattern recognition receptors) that leads to PAMP-triggered immunity (PTI); 2) at this stage, some pathogens manage to overcome this resistance by means of substances that interfere with PTI, resulting in effector-triggered susceptibility (ETS); 3) one of the effectors is recognized by an R protein (resistance-associated protein), activating effector-triggered immunity (ETI) that amplifies PTI, and in turn is related to hypersensitive response (HR); 4) during this phase, natural selection makes some of the pathogen's diversified genes lose the recognized effector and gain new effectors through horizontal gene flow, enabling them to overcome ETI. Finally, selection favors the appearance of new R proteins, enabling plants to recognize other effectors, again resulting in activation of ETI (Jones & Dangl, 2006).

In the case of beans, it has been observed that the pathogen *Phytophthora sojae* suppresses the positive regulator of programmed cell death (PCD) (Dou et al., 2008). In addition, *P. infestans* uses the expression of effectors SNE1 and PiNPP1.1 to optimize its growth (Kelley et al., 2010).

In fruits it is known that softening promotes pathogen development, and that the cell wall plays an important role in the recognition of this and in the deployment of defense responses. However, due to the degradation of the cell wall by the pathogen there is enzyme depolymerization, a process linked to the PTI molecules (Mengiste, 2012).

In tomato, the simultaneous suppression of the *LePG* and *LeExp1* genes (associated with the fruit ripening process) reduces their sensitivity to *B. cinerea*. On the other hand, this pathogen also induces the expression of these genes, suggesting that there are aspects that are induced by the fungus and that they are similar to those that occur during fruit ripening, which contributes to their greater susceptibility (Cantu et al., 2008).

The behavior of PAMPs in plant-pathogen interactions has been widely studied, and it is thought to have certain similarities with fruit responses to pathogens; however, the details of how they are regulated and how

lleva a cabo en cuatro fases: 1) en la primera, la planta detecta una serie de PAMPs (patrones moleculares asociados a patógenos) a través de los PRRs (receptores de reconocimiento de patrones) para desencadenar la inmunidad asociada a PAMPs (PTI); 2) en esta fase, algunos patógenos consiguen vencer esa resistencia por medio de sustancias que interfieren con la PTI, lo que resulta en susceptibilidad asociada a efectores (ETS); 3) uno de los effectores es reconocido por una proteína R (proteína asociada con la resistencia) activando inmunidad asociada a efectores (ETI) que amplifica la PTI, y a su vez está relacionada con la respuesta hipersensible (HR); 4) durante esta fase, la selección natural hace que algunos genes diversificados del patógeno pierdan el efector reconocido y que puedan ganar nuevos effectores a través del flujo genético horizontal, permitiéndoles superar la ETI. Finalmente, la selección favorece la aparición de nuevas proteínas R permitiendo a las plantas reconocer otros effectores, lo que resulta otra vez en la activación de la ETI (Jones & Dangl, 2006).

En el caso del frijol, se ha observado que el patógeno *Phytophthora sojae* suprime el regulador positivo de la muerte celular programada (PCD) (Dou et al., 2008). Asimismo, *P. infestans* utiliza la expresión de los effectores SNE1 y PiNPP1.1 para optimizar su crecimiento (Kelley et al., 2010).

En frutos se sabe que su ablandamiento promueve el desarrollo del patógeno, y que la pared celular juega un papel importante en el reconocimiento de éste y en el despliegue de las respuestas de defensa. Sin embargo, debido a la degradación de la pared celular por el patógeno existe depolimerización de enzimas, proceso ligado a las moléculas PTI (Mengiste, 2012).

En tomate, la supresión simultánea de los genes *LePG* y *LeExp1* (asociados al proceso de maduración de la fruta) disminuye su sensibilidad a *B. cinerea*. Por otro lado, este patógeno también induce la expresión de dichos genes, sugiriendo que existen aspectos que son inducidos por el hongo y que son similares a los ocurridos durante la maduración de los frutos, lo que contribuye a que éstos tengan mayor susceptibilidad al patógeno (Cantu et al., 2008).

El comportamiento de las PAMPs en las interacciones planta-patógeno ha sido bastante estudiado, y se piensa que tiene ciertas similitudes con las respuestas de los frutos a los patógenos; sin embargo, falta elucidar los detalles de cómo se regulan e interactúan en estos casos, por lo que aún necesita ser explorado.

Respuesta hipersensible (HR)

La HR tiene lugar durante los primeros minutos de la interacción, en el punto de entrada del patógeno y en

they interact in these cases have yet to be elucidated; therefore, more research in this area is needed.

Hypersensitive response (HR)

HR takes place during the first few minutes of interaction, at the pathogen's point of entry and in adjacent cells. This occurs as a "suicide" program, active and organized, and not because of a passive cell collapse produced by the pathogen attack or toxins resulting from it (Torres, Jones, & Dangl, 2006). In this cellular process, protein kinase and phosphatase enzymes are activated, and there are also changes in membrane permeability and intracellular ion concentration (Zhao, Davis, & Verpoorte, 2005). At the same time, rapid activation of reactive oxygen species (ROS) occurs; this process includes the production of substances such as superoxide (O_2^-), hydroxyl radical (OH^\cdot) and hydrogen peroxide (H_2O_2), which are responsible for the oxidative burst that indicates that the host has successfully recognized the pathogen. This takes place in two phases: the first is transient and nonspecific and occurs in the first few minutes of interaction, while the second appears hours after the pathogen attack and is associated with the establishment of defenses (Grant & Loake, 2000) (Figure 4).

ROS are associated with defense responses, playing a varied and complex role, since they can directly cause toxicity to pathogens, such as the radical OH^\cdot which is more reactive than the other oxidative species (H_2O_2 , O_2^-) (Torres, 2010). It was observed that unripe avocado fruits were able to activate ROS production in response to infection by *C. gloeosporioides*, resulting in greater resistance to the pathogen, unlike what happened with ripe fruits (Benito-Moualem & Prusky, 2000).

Plasma membrane NADPH oxidases and cell wall peroxidases (POXs), both of which are enzymes, are probably the main biochemical sources of ROS production (Torres et al., 2006). The NADPH oxidase enzyme subunit (gp91^{phox}) is responsible for transferring electrons to molecular oxygen for the generation of superoxide (O_2^-) (Alkan, Davydov, Sagi, Fluhr, & Prusky, 2009). Meanwhile, the peroxidases catalyze the oxidation-reduction (redox) of different substrates using H_2O_2 , and depending on the pH they can also be a source of H_2O_2 in the presence of a free reductant (O'Brien, Daudi, Butt, & Bolwell, 2012). In unripe Golden Delicious apples, increased H_2O_2 levels in response to infection by *Penicillium expansum* were observed (Torres, Valentines, Usall, Viñas, & Larrigaudiere, 2003). On the other hand, Macarisin et al. (2007) found that inoculation with *Penicillium digitatum* suppressed H_2O_2 production in citrus fruits (compatible interaction), while inoculation with *P. expansum* increased H_2O_2 accumulation by 63-fold over the control (nonhost interaction).

las células adyacentes. Ésta ocurre como un programa "suicida", activo y organizado, y no como consecuencia de algún colapso celular pasivo producido por el ataque del patógeno o por toxinas derivadas de éste (Torres, Jones, & Dangl, 2006). En este proceso celular se activan enzimas del tipo protein-quinasas y fosfatasa, además hay cambios en la permeabilidad de la membrana y en la concentración de iones intracelulares (Zhao, Davis, & Verpoorte, 2005). Paralelamente ocurre la activación rápida de especies reactivas de oxígeno (ROS del inglés *reactive oxygen species*), que incluye la producción de sustancias como el superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo (OH^\cdot) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), responsables de la explosión oxidativa indicadora de que el huésped ha reconocido exitosamente al patógeno. Ésta transcurre en dos fases: la primera es transitoria e inespecífica y ocurre en los primeros minutos de la interacción; mientras que la segunda aparece horas después del ataque del patógeno y se encuentra asociada con el establecimiento de las defensas (Grant & Loake, 2000) (Figure 4).

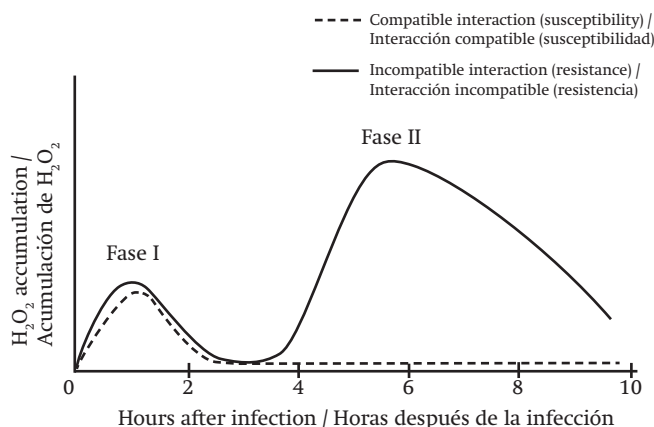


Figure 4. Peroxide (H_2O_2) accumulation during the oxidative burst in compatible and incompatible host-pathogen interactions (adapted from Lamb & Dixon, 1997).

Figura 4. Acumulación de peróxido (H_2O_2) durante la explosión oxidativa en las interacciones compatible e incompatible huésped-patógeno (adaptado de Lamb & Dixon, 1997).

Las ROS están asociadas con las respuestas de defensa, desempeñando un papel variado y complejo, ya que pueden causar directamente toxicidad a los patógenos, como por ejemplo el radical OH^\cdot que es más reactivo que las demás especies oxidativas (H_2O_2 , O_2^-) (Torres, 2010). Se observó que frutos inmaduros de aguacate fueron capaces de activar la producción de ROS como respuesta a la infección por *C. gloeosporioides*, resultando más resistentes al patógeno, a diferencia de lo ocurrido con frutos maduros (Benito-Moualem & Prusky, 2000).

Las enzimas NADPH oxidasas de la membrana plasmática y las peroxidasa (POXs) de la pared celular son, probablemente, las principales fuentes bioquímicas de producción de ROS (Torres et al., 2006). La

ROS can also form physical barriers at the infection site by cross-linking of cell wall glycoproteins or via oxidative cross-linking of precursors during biosynthesis of polymers such as lignin and suberin (Torres, 2010). These polymers can also be directly toxic, degrading the wall of the fungi and bacteria (Treutter, 2006). In this regard, Vilanova, Teixidó, Torres, Usall, and Viñas (2012) observed lignin production in unripe apples infected with *P. expansum* (compatible interaction) and *P. digitatum* (nonhost interaction) one day after inoculation; on the other hand, the lignin increase in unripe oranges occurred after 48 hours with both pathogens, decreasing in ripe fruits (Vilanova, Viñas, Torres, Usall, Jauset, & Teixidó, 2012). Apples treated with ROS-inducing compounds, such as guaiacol, also showed increased lignin production, which reduced the incidence of *P. expansum* (Valentines, Vilaplana, Torres, Usall, & Larrigaudiere, 2005).

Because the oxidative burst occurs as an active and organized program, fruits have various ROS detoxification systems involving enzymes such as ascorbate peroxidases (APX), glutathione reductase (GR), superoxide dismutases (SOD) and catalases (CAT), which maintain homeostasis in different cell compartments, restricting the ROS-induced damage and activating transduction signals (Mittler, Vanderauwera, Gollery, & Breusegem, 2004). Valentines et al. (2005) observed in immature apples infected with *P. expansum* higher oxidation potential, and in turn they were less susceptible than mature fruits, suggesting that POX is involved in pathogen resistance. It was also observed that oranges infected with *P. digitatum* reduced the levels of H_2O_2 , SOD and CAT, after 72 hours, confirming the role of the pathogen in the deactivation of the fruit's ROS production mechanisms (Torres et al., 2011).

It is evident that ROS are also important defense gene activators. They can encode for enzymes involved in the synthesis of phytoalexins, which are secondary metabolites with antimicrobial properties that can accumulate in response to pathogens (Torres et al., 2006). Most of these metabolites are from the phenylpropanoid pathways, such as flavonoids, isoflavones, coumarins, stilbenes, dihydrophenanthrenes and other phenols. In unripe avocados a significant increase in epicatechin levels occurs six hours after being infected with *C. gloeosporioides* (Ben-Moualem & Prusky, 2000).

Another phytoalexin, the scoparone, was found in citrus fruits inoculated with *P. digitatum* and treated with hot water or UV radiation (Ben-Yehoshua & Mercier, 2005). It is known that scoparone levels increase in response to stress, resulting in a hostile environment for the pathogen, which decreases the incidence and severity of disease (Ballester, Izquierdo, Lafuente, & González-Candelas, 2010). An increase in polymethoxylated flavones (PMFs), chlorogenic acid (CGA), and scoparone

subunidad enzimática (gp91^{phox}) de las NADPH oxidasas es la encargada de transferir electrones al oxígeno molecular para la generación del superóxido (O_2^-) (Alkan, Davydov, Sagi, Fluhr, & Prusky, 2009). Mientras tanto, las peroxidases catalizan la oxidorreducción de diferentes sustratos usando H_2O_2 , y en función del pH también pueden ser fuente de H_2O_2 en presencia de un reductor libre (O'Brien, Daudi, Butt, & Bolwell, 2012). En manzanas inmaduras 'Golden Delicious' se observó aumento en los niveles de H_2O_2 como respuesta a la infección por *Penicillium expansum* (Torres, Valentines, Usall, Viñas, & Larrigaudiere, 2003). Por otro lado, Macarisin et al. (2007) observaron que la inoculación con *Penicillium digitatum* suprimió la producción de H_2O_2 en frutos cítricos (interacción compatible); mientras que su inoculación con *P. expansum* estimuló 63 veces más la acumulación de H_2O_2 (interacción no-huésped).

Las ROS también pueden formar barreras físicas en el sitio de infección por entrecruzamiento de glicoproteínas de la pared celular o vía oxidativa de precursores durante la biosíntesis de polímeros como lignina y suberina (Torres, 2010). Dichos polímeros también pueden ser directamente tóxicos degradando la pared de hongos y bacterias (Treutter, 2006). Con respecto a esto, Vilanova, Teixidó, Torres, Usall, y Viñas (2012) observaron la producción de lignina en manzanas inmaduras infectadas con *P. expansum* (interacción compatible), y *P. digitatum* (interacción no-huésped) un día después de la inoculación; por otro lado, en naranjas inmaduras el incremento de lignina ocurrió después de 48 horas con ambos patógenos, decreciendo en frutos maduros (Vilanova, Viñas, Torres, Usall, Jauset, & Teixidó, 2012). También manzanas tratadas con compuestos inductores de ROS, como guayacol, mostraron aumento en la producción de lignina, lo cual redujo la incidencia de *P. expansum* (Valentines, Vilaplana, Torres, Usall, & Larrigaudiere, 2005).

Debido a que la explosión oxidativa ocurre como un programa activo y organizado, los frutos disponen de varios sistemas de detoxificación de ROS mediante enzimas como las ascorbato peroxidases (APX), glutatión reductasa (GR), superóxido dismutasas (SOD) y catalasas (CAT), que mantienen la homeostasis en diferentes compartimentos de la célula, restringiendo el daño provocado por las ROS y activando señales de transducción (Mittler, Vanderauwera, Gollery, & Breusegem, 2004). Valentines et al. (2005) observaron en manzanas inmaduras infectadas con *P. expansum* mayor potencial de oxidación, y a su vez resultaron menos susceptibles que frutos maduros; lo cual sugiere que la POX está involucrada en la resistencia al patógeno. También se observó que naranjas infectadas con *P. digitatum* redujeron los niveles de H_2O_2 , SOD y CAT, después de 72 horas, lo que confirma el papel del patógeno en la desactivación de los mecanismos de producción de ROS de la fruta (Torres et al., 2011). Es evidente que las ROS también son importantes

in oranges infected with *P. digitatum* was also observed (Ballester, Lafuente, & González-Candelas, 2013).

Caffeic acid (CA) and CGA have also been proposed as resistance factors in peach against brown rot caused by *Monilinia fructicola* (Lee & Bostock, 2007). CA is able to affect the virulence of this pathogen through cellular redox regulation, increasing the activity of glutathione reductase, which in turn can maintain a high proportion of reduced glutathione (GSH) to oxidized glutathione (GSSG) in the cell (Chiu et al., 2012). These compounds are also capable of inhibiting the expression of virulence genes such as *mfcut1* and *mfp1g1*, which encode for a cutinase and a polygalacturonase, respectively, and they also inhibit the formation of appressoria (Lee & Bostock, 2007).

Also, the production of phytoalexins has been associated with the expression of a series of specific genes that encode specific enzymes responsible for their synthesis, such as phenylalanine ammonia lyase (PAL), chalcone synthase (CHS) and chalcone isomerase (CHI) (Yu & Jez, 2008). In oranges it was observed that *pal1* and *pox1* gene expression, as well as PAL and POX enzyme activities, increased after infection with *P. digitatum* and a subsequent heat treatment used as a control method (3 d, 37 °C) (Ballester et al., 2010).

This same behavior of the *pal1* and *pox1* genes was observed in oranges infected with *P. digitatum* and *P. expansum* after 24 hours of incubation, whereas, at 48 hours, the expression of *pal1*, *pox1*, *comt1* and *sad* increased in response to the wound, and decreased against *P. digitatum*, demonstrating that this pathogen has the ability to suppress defense gene expression (Vilanova et al., 2013). For their part, Ballester et al. (2013) observed in the flavedo of oranges an increase in the level of expression of 10 genes related to the phenylpropanoid pathway, 48 hours after being infected with *P. digitatum*.

Systemic acquired resistance (SAR)

It is a broad spectrum response that provides the plant or fruit with long-lasting protection, even in areas far from the pathogen penetration site, from a second infection by the same or another agent (Glazebrook, 2005). The manifestation of SAR implies the existence of a system capable of transmitting signals through local and systemic tissues, including processes involving the synthesis of salicylic acid (SA) (Durrant & Dong, 2004), as well as jasmonic acid (JA) and ethylene (van-Loon, Geraats, & Linthorst, 2006) (Figure 5).

Zeng, Cao, and Jiang (2006) observed increased levels of POX, PPO, PAL, β -1,3-glucanase and ROS (namely H_2O_2 and O_2^-) in mangoes treated with SA and subsequently inoculated with *C. gloeosporioides*, with a consequent

activadores de genes de defensa. Éstos pueden codificar para enzimas que participan en la síntesis de fitoalexinas, que son metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas que pueden acumularse en respuesta a los patógenos (Torres et al., 2006). La mayoría de estos metabolitos proceden de la ruta de los fenilpropanoides, como flavonoides, isoflavonoides, cumarinas, estilbenos, dihidrofenantrenos y otros fenoles. En aguacates inmaduros se observó un importante incremento en los niveles de epicatequina después de seis horas de haberse infectado con *C. gloeosporioides* (Ben-Moualem & Prusky, 2000).

Otra fitoalexina, la escaparona, fue encontrada en frutos cítricos inoculados con *P. digitatum* y tratados con agua caliente o radiación UV (Ben-Yehoshua & Mercier, 2005). Se sabe que los niveles de escaparona aumentan como respuesta al estrés, causando un ambiente hostil al patógeno, lo que disminuye la incidencia y severidad de la enfermedad (Ballester, Izquierdo, Lafuente, & González-Candelas, 2010). También se observó incremento de flavonas polimetoxiladas (PMFs), de ácido clorogénico (CGA del inglés "Chlorogenic acid"), didimina y escaparona en naranjas infectadas con *P. digitatum* (Ballester, Lafuente, & González-Candelas, 2013).

El ácido cafeico (CA) y el CGA también han sido propuestos como factores de resistencia en durazno contra la pudrición café causada por *Monilinia fructicola* (Lee & Bostock, 2007). El CA es capaz de afectar la virulencia de este patógeno a través de la regulación celular redox, incrementando la actividad de la glutatión reductasa, que a su vez puede mantener alta proporción de glutatión reducido (GSH) a glutatión oxidado (GSSG) en la célula (Chiu et al., 2012). Estos compuestos también son capaces de inhibir la expresión de genes de virulencia como el *mfcut1* y el *mfp1g1* (que codifican respectivamente para una cutinasa y una poligalacturonasa), además de inhibir la formación de apresorios (Lee & Bostock, 2007).

Asimismo, la producción de fitoalexinas se ha asociado a la expresión de una serie de genes que codifican para enzimas específicas responsables de su síntesis, como la fenilalanina amonio liasa (PAL), la chalcona sintasa (CHS) y la chalcona isomerasa (CHI) (Yu & Jez, 2008). En naranjas se observó que la expresión de los genes *pal1* y *pox1*, así como las actividades enzimáticas PAL y POX, incrementaron tras la infección con *P. digitatum* y un tratamiento posterior con calor como método de control (3 d, 37 °C) (Ballester et al., 2010).

Este mismo comportamiento de los genes *pal1* y *pox1* fue observado en naranjas infectadas con *P. digitatum* y *P. expansum* después de 24 horas de incubación; mientras que, a 48 horas, la expresión de *pal1*, *pox1*, *comt1* y *sad* incrementó como respuesta a la herida, y decreció ante

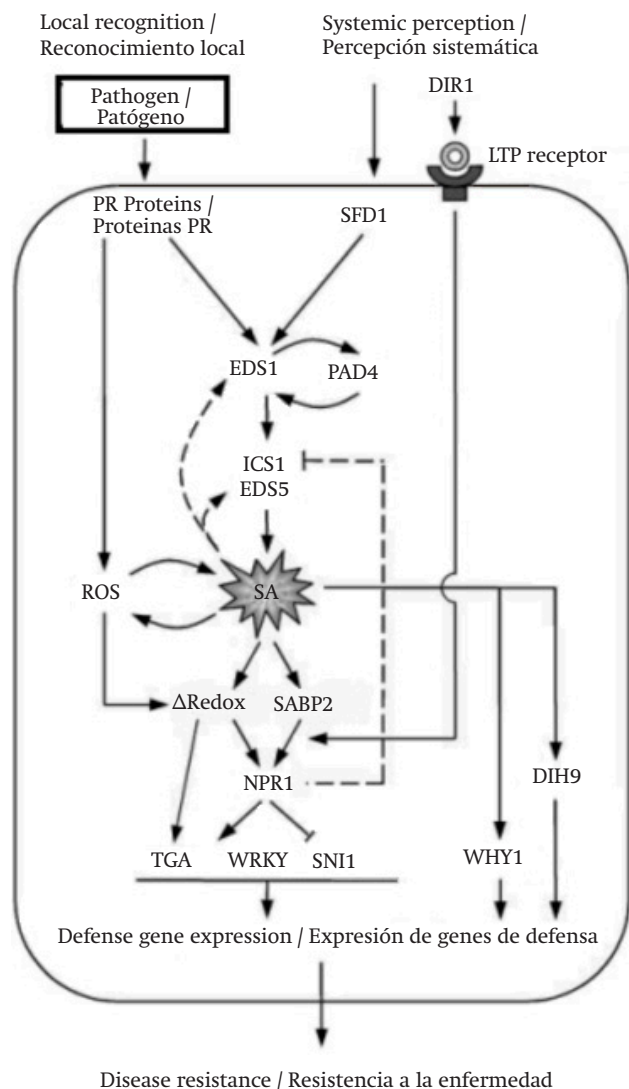


Figure 5. Process of recognition of the pathogen to the induction of defense genes (adapted from Durrant & Dong, 2004).

Figura 5. Proceso de reconocimiento del patógeno hasta la inducción de genes de defensa (adaptado de Durrant & Dong, 2004).

reduction in the damage caused by the fungus. SAR is also associated with the accumulation of low molecular weight, protease-resistant PR proteins (Durrant & Dong, 2004), which are located extracellularly and are stable at low pH (Liu & Ekramoddoullah, 2006). Since the cell wall of fungi consists of glucans, chitins, fatty acids, etc., the fruit can present mechanisms to degrade these compounds with proteins such as PR-2 (β -1,3-glucanases) and PR-3 (chitinases); therefore, the high expression of these genes is important for defense against pathogens containing these substrates. The expression of *pdpr5-1*, which encodes for thaumatin, increases during plum (*Prunus domestica*) ripening and is over-expressed in cultivars less susceptible to *M. fructicola*. Also, the PR-5 proteins may indirectly

P. digitatum, demostrando que dicho patógeno tiene la habilidad de suprimir la expresión de genes de defensa (Vilanova et al., 2013). Por su parte, Ballester et al. (2013) observaron en el flavedo de naranjas incremento en el nivel de expresión de 10 genes relacionados con la ruta de los fenilpropanoides, después de 48 horas de haber sido infectadas con *P. digitatum*.

Respuesta sistémica adquirida (SAR)

Es una respuesta de amplio espectro que protege a la planta o al fruto, incluso en zonas alejadas al sitio de penetración del patógeno, de una segunda infección por el mismo u otro agente con efecto prolongado (Glazebrook, 2005). La manifestación de SAR implica la existencia de un sistema capaz de transmitir señales a través de los tejidos local y sistémico, involucrando procesos que incluyen las síntesis del ácido salicílico (SA) (Durrant & Dong, 2004), además del ácido jasmónico (JA) y el etileno (van-Loon, Geraats, & Linthorst, 2006) (Figura 5).

Zeng, Cao, y Jiang (2006) observaron incremento en los niveles de POX, PPO, PAL, β -1,3-glucanasa y ROS (concretamente H_2O_2 y O_2^-) en mangos tratados con SA y posteriormente inoculados con *C. gloeosporioides*, con la consecuente disminución del daño por el hongo. La SAR también está asociada con la acumulación de proteínas PR (Durrant & Dong, 2004) de bajo peso molecular, resistentes a las proteasas, que se localizan extracelularmente y son estables a pH bajos (Liu & Ekramoddoullah, 2006). Estando la pared celular de los hongos compuesta de glucanos, quitinas, ácidos grasos, etc., la fruta puede presentar mecanismos para degradar estos compuestos mediante proteínas, como las PR-2 (β -1,3-glucanasas) y PR-3 (quitinasas); por lo que la alta expresión de estos genes resulta importante para la defensa contra patógenos que contienen esos sustratos. La expresión de *pdpr5-1* (codifica para taumatina) aumenta durante la maduración del ciruelo (*Prunus domestica*) y se sobreexpresa en cultivares menos susceptibles a *M. fructicola*. Asimismo, las proteínas PR-5 pueden contribuir indirectamente a otros mecanismos de protección como en las rutas de fenilpropanoides y fitoalexinas (El-Kereamy et al., 2011). Ballester et al. (2010) observaron aumento en la actividad de los genes *gns1* y *chi1* que codifican para las enzimas β -1,3-glucanasas y quitinasas en frutos de naranja inoculados con *P. digitatum* y tratados por calor (3 d, 37 °C). Casado et al. (2006) detectaron incremento en la expresión de diversos genes que codifican para proteínas PR, ROS, proteínas ricas en leucinas, glucanasas y quitinasas, en fresas infectadas con *C. acutatum* menos susceptibles al patógeno.

Por otra parte, se reportó la inducción de la producción de etileno y la expresión de genes involucrados con su síntesis en interacciones con frutos cítricos y *P. digitatum* (Marcos, González-Candelas, & Zacarías, 2005).

contribute to other protection mechanisms such as in the phenylpropanoid and phytoalexin pathways (El-Kereamy et al., 2011). Ballester et al. (2010) observed increased activity of the *gns1* and *chi1* genes that encode for β -1,3-glucanase and chitinase enzymes in orange fruits inoculated with *P. digitatum* and heat treated (3 d, 37 °C). Casado et al. (2006) detected increased expression of various genes encoding PR proteins, ROS, leucine-rich proteins, glucanases and chitinases, in strawberries infected with *C. acutatum* that are less susceptible to the pathogen.

On the other hand, the induction of ethylene production and the expression of genes involved with their synthesis in interactions with citrus fruits and *P. digitatum* were reported (Marcos, González-Candelas, & Zechariah, 2005). Similarly, increased ethylene levels in oranges heat-treated and inoculated with *P. digitatum* were observed (Ballester et al., 2011; González-Candelas, Alamar, Sánchez-Torres, Zacarias, & Marcos, 2010). However, the role of ethylene in defense responses is complex, depending on the type of interaction (Berrocal-Lobo, Molina, & Solano, 2002).

In the case of JA, defense responses are not associated with cell death, making it an alternative in the application of treatments against necrotrophic fungi (McDowell & Dangl, 2000). It was observed that the application of methyl jasmonate in guava (*Psidium guajava*) is effective for controlling *C. gloeosporioides* through stimulation of the enzyme activities of lipoxygenase (LOX) and PAL (González-Aguilar, Tiznado-Hernández, Zavaleta-Gatica, & Martínez-Tellez, 2004).

Conclusions

Studies to date indicate that compounds such as ROS, phenylpropanoid pathway metabolites, ethylene, jasmonic acid and PR proteins, among others, or the expression of genes encoding them, are related to defense responses that fruits trigger once they detect the presence of a pathogen.

Although disease response processes in plants have been extensively studied, in the case of postharvest fruits many of them are still unknown, and also the results are different for each pathosystem, making it difficult to generalize them. Therefore, it is necessary to elucidate fruit protection mechanisms against diseases in comparison with other systems, metabolic pathways or other compounds and, on the other hand, deepen our knowledge of the virulence factors developed by pathogens to counteract such defenses. Generating more knowledge in this area will allow standardizing the different results obtained and improving the implementation of effective treatments for controlling postharvest diseases without harming man and the environment.

De igual forma, se observó aumento en los niveles de etileno en naranjas tratadas con calor e inoculadas con *P. digitatum* (Ballester et al., 2011; González-Candelas, Alamar, Sánchez-Torres, Zacarias, & Marcos, 2010). Sin embargo, el papel del etileno en las respuestas de defensa es complejo, dependiendo del tipo de interacción (Berrocal-Lobo, Molina, & Solano, 2002).

En el caso del JA las respuestas de defensa no se asocian con muerte celular, por lo que éste representa una alternativa en la aplicación de tratamientos contra hongos necrótrofos (McDowell & Dangl, 2000). Se observó que la aplicación de metil jasmonato en guayaba (*Psidium guajava*) resulta efectiva para el control de *C. gloeosporioides* mediante la estimulación de las actividades enzimáticas de la lipooxigenasa (LOX) y PAL (González-Aguilar, Tiznado-Hernández, Zavaleta-Gatica, & Martínez-Tellez, 2004).

Conclusiones

Los estudios realizados hasta el momento indican que compuestos como las ROS, metabolitos de la ruta de los fenilpropanoides, el etileno, el ácido jasmónico y proteínas-PR entre otros, o bien, la expresión de genes que codifican para éstos, se encuentran relacionados con las respuestas de defensa que desencadenan los frutos una vez que detectan la presencia del patógeno.

Si bien los procesos de respuesta a enfermedades en plantas han sido ampliamente estudiados, en el caso particular de los frutos en poscosecha aún se desconocen muchos de éstos y, además, los resultados son diferentes para cada patosistema, por lo que difícilmente se pueden tomar de manera generalizada. Por lo anterior es necesario elucidar los mecanismos de protección de los frutos a enfermedades con respecto a otros sistemas, rutas metabólicas u otros compuestos y, por otro lado, profundizar en los factores de virulencia desarrollados por los patógenos para contrarrestar dichas defensas. La generación de mayor conocimiento en esta área permitirá uniformizar los diferentes resultados obtenidos y llegar a la mejora en la implementación de tratamientos efectivos para controlar las enfermedades en poscosecha sin dañar al hombre y al ambiente.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el gobierno español a través del proyecto AGL2011-30519-C03-03 y por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México a través de los Fondos FOMIX-QRO-2010-C01-145514.

Fin de la versión en español

Acknowledgements

This work was funded by the Spanish government through project AGL2011-30519-C03-03 and by Mexico's National Science and Technology Council through funds FOMIX-QRO-2010-C01-145514.

End of English version

References / Referencias

- Agrios, G. (2007). *Plant pathology* (5a ed). San Diego, USA: Academic Press.
- Alkan, N., Davydov, O., Sagi, M., Fluhr, R., & Prusky, D. (2009). Ammonium secretion by *Colletotrichum coccodes* activates host NADPH oxidase activity enhancing host cell death and fungal virulence in tomato fruits. *The American Phytopathological Society*, 22(12), 1484-1491. doi: 10.1094/MPMI-22-12-1484
- Anand, T., Bhaskaran, R., Raguchander, T., Samiyappan, R., Prakasam, V., & Gopalakrishnan, C. (2009). Defence responses of chilli fruits to *Colletotrichum capsici* and *Alternaria alternata*. *Biologia Plantarum*, 53(3), 553-559. doi: 10.1007/s10535-009-0100-5
- Ballester, A. R., Izquierdo, A., Lafuente, M. T., & González-Candelas, L. (2010). Biochemical and molecular characterization of induced resistance against *Penicillium digitatum* in citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 56, 31-38. doi: 10.1016/j.postharvbio.2009.10.002
- Ballester, A. R., Lafuente, M. T., Forment, J., Gadea, J., De Vos, R. C. H., Bovy, A. G., & González-Candelas, L. (2011). Transcriptomic profiling of citrus fruit peel tissues reveals fundamental effects of phenylpropanoids and ethylene on induced resistance. *Molecular Plant Pathology*, 12(9), 879-897. doi: 10.1111/j.1364-3703.2011.00721.X
- Ballester, A. R., Lafuente, M. T., & González-Candelas, L. (2013). Citrus phenylpropanoids and defence against pathogens. Part II: Gene expression and metabolite accumulation in the response of fruits to *Penicillium digitatum* infection. *Food Chemistry*, 136, 285-291. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.08.006
- Ben-Yehoshua, S., & Mercier, J. (2005). UV irradiation, biological agents, and natural compounds for controlling postharvest decay in fresh fruits and vegetables. In S. Ben-Yehoshua (Ed.), *Environmentally friendly technologies for agricultural produce quality* (pp. 265-299). Boca Ratón, Florida: CRC Press.
- Beno-Moualem, D., & Prusky, D. (2000). Early events during quiescent infection development by *Colletotrichum gloeosporioides* in unripe avocado fruits. *Phytopathology*, 90, 553-559. doi: 10.1094/PHTO.2000.90.5.553
- Berrocal-Lobo, M., Molina, A., & Solano, R. (2002). Constitutive expression of ethylene-response-factor1 in *Arabidopsis* confers resistance to several necrotrophic fungi. *The Plant Journal*, 29(1), 23-32. doi: 10.1046/j.1365-313x.2002.01191.x
- Boller, T., & Yang He, S. (2009). Innate immunity in plants: An arms race between pattern recognition receptors in plants and effectors in microbial pathogens. *Science*, 324(5928), 742-744. doi: 10.1126/science.1171647
- Cantu, D., Vicente, A. R., Greve, L. C., Dewey, F. M., Bennett, A. B., Labavitch, J. M., & Powell, A. L. T. (2008). The intersection between cell wall disassembly, ripening, and fruit susceptibility to *Botrytis cinerea*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(3), 859-864. doi: 10.1073/pnas.0709813105
- Casado, D. A., Encinas-Villarejo, S., De Los Santos, B., Schiliro, E., Yubero-Serrano, E. M., Amil-Ruiz, F.,...Caballero, J. L. (2006). Analysis of strawberry genes differentially expressed in response to *Colletotrichum* infection. *Physiologia Plantarum*, 128, 633-650. doi: 10.1111/j.1399-3054.2006.00798.x
- Chiu, C. M., You, B. J., Chou, C. M., Yu, P. L., Yu, F. Y., Pan, S. M.,...Lee, M. H. (2012). Redox status-mediated regulation of gene expression and virulence in the brown rot pathogen *Monilinia fructicola*. *Plant Pathology*, 62(4), 809-819. doi: 10.1111/ppa.12006
- Dou, D. L., Kale, S. D., Wang, X. L., Chen, Y. B., Wang, Q., Wang, X.,...Brett, M. T. (2008). Conserved C-terminal motifs required for avirulence and suppression of cell death by *Phytophthora sojae* effector Avr1b. *Plant Cell*, 20(4), 1118-1133. doi: 10.1105/tpc.107.057067
- Durrant, W. E., & Dong, X. (2004). Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 45, 185-209. doi: 10.1146/annurev.phyto.42.040803.140421
- El-Kereamy, A., El-Sharkawy, I., Ramamoorthy, R., Taheri, A., Errampalli, D., Kumar, P., & Jayasankar, S. (2011). *Prunus domestica* pathogenesis-related protein-5 activates the defense response pathway and enhances the resistance to fungal infection. *Plos One*, 6(3), e17973. doi: 10.1371/journal.pone.0017973
- Elvira, M. I., Molina, G. M., Gilardi, P., García-Luque, I., & Serra, M. T. (2008). Proteomic analysis of pathogenesis-related proteins (PRs) induced by compatible and incompatible interactions of pepper mild mottle virus (PMMoV) in *Capsicum chinense* L³ plants. *Journal of Experimental Botany*, 59(6), 1253-1265. doi: 10.1093/jxb/ern032
- Ferreira, R. B., Monteiro, S., Freitas, R., Santos, C. N., Chen, Z., Batista, L. M.,...Teixera, A. R. (2006). Fungal pathogens: The battle for plant infection. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 25, 505-524. doi: 10.1080/07352680601054610
- Glazebrook, J. (2005). Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 43, 205-227. doi: 10.1146/annurev.phyto.43.040204.135923
- González-Aguilar, G. A., Tiznado-Hernández, M. E., Zavaleta-Gatica, R., & Martínez-Tellez, M. A. (2004). Methyl jasmonate treatments reduce chilling injury and activate the defense response of guava fruits. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 313, 694-701. doi: 10.1016/j.bbrc.2003.11.165

- González-Candelas, L., Alamar, S., Sanchez-Torres, P., Zacarias, L., & Marcos, J. (2010). A transcriptomic approach highlights induction of secondary metabolism in citrus fruit in response to *Penicillium digitatum* infection. *BMC Plant Biology*, 10(1), 194-211. doi: 10.1186/1471-2229-10-194
- Grant, J. J., & Loake, G. J. (2000). Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance. *Plant Physiology*, 124, 21-29. doi: 10.1104/pp.124.1.21
- Guan, Y., Chang, R., Liu, G., Wang, Y., Wu, T., Han, Z., & Zhang, X. (2015). Role of lenticels and microcracks on susceptibility of apple fruit to *Botryosphaeria dothidea*. *European Journal of Plant Pathology*. doi: 10.1007/s10658-015-0682-z
- Hassan, M. K., Dann, E. K., Irving, D. E., & Coates, L. M. (2007). Concentrations of constitutive alk(en)ylresorcinols in peel of commercial mango varieties and resistance to postharvest anthracnose. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 71, 158-165. doi: 10.1016/j.pmpp.2007.12.005
- Janisiewicz, W. J., & Korsten, L. (2002). Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annual Review of Phytopathology*, 40, 411-441. doi: 10.1146/annurev.phyto.40.120401.130158
- Janisiewicz, W. J., Saftner, R. A., Conway, W. S., & Forsline, P. L. (2008). Preliminary evaluation of apple germplasm from Kazakhstan for resistance to postharvest blue mold in fruit caused by *Penicillium expansum*. *HortScience*, 43(2), 420-426. Obtenido de <http://ucanr.edu/datastoreFiles/234-1665.pdf>
- Jones, J. D. G., & Dangl, J. L. (2006). The plant immune system. *Nature*, 444, 323-329. doi:10.1038/nature05286
- Jurick II, W. M., Janisiewicz, W. J., Saftner, R. A., Vco, I., Gaskins, V. L., Park, E.,...Conway, W. S. (2011). Identification of wild apple germplasm (*Malus* spp.) accessions with resistance to the postharvest decay pathogens *Penicillium expansum* and *Colletotrichum acutatum*. *Plant Breeding*, 130, 481-486. doi: 10.1111/j.1439-0523.2011.01849.x
- Kelley, B. S., Lee, S. J., Damasceno, C. M. B., Chakravarthy, S., Kim, B. D., Martin, G. B., & Rose, J. K. (2010). A secreted effector protein (SNE1) from *Phytophthora infestans* is a broadly acting suppressor of programmed cell death. *The Plant Journal*, 62(3), 357-366. doi: 10.1111/j.1365-313X.2010.04160.x
- Khadivi-khub, A. (2014). Physiological and genetic factors influencing fruit cracking. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37, 1718. doi: 10.1007/s11738-014-1718-2
- Lamb, C., & Dixon, R. A. (1997). The oxidative burst in plant disease resistance. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology*, 48, 251-275. doi: 10.1146/annurev.arplant.48.1.251
- Lanza, B., & Di Serio M. G. (2015). SEM characterization of olive (*Olea europea* L.) fruit epicarp waxes and epicarp. *Scientia Horticulturae*, 191, 49-56. doi: 10.1016/j.scientia.2015.04.033
- Lee, M. H., & Bostock, R. M. (2007). Fruit exocarp phenols in relation to quiescence and development of *Monilinia fructicola* infections in *Prunus* spp.: A role for cellular redox?. *Phytopathology*, 97(3), 269-277. doi: 10.1094/PHYTO-97-3-0269
- Liu, J. J., & Ekramoddoullah, A. K. (2006). The family 10 of plant pathogenesis-related proteins: their structure, regulation, and function in response to biotic and abiotic stresses. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 68(1), 3-13. doi: 10.1016/j.pmpp.2006.06.004
- Macarisin, D., Cohen, L., Eick, A., Rafael, G., Belausov, E., Wisniewski, M., & Droby, S. (2007). *Penicillium digitatum* suppresses production of hydrogen peroxide in host tissue during infection of citrus fruit. *Postharvest Pathology and Micotoxins*, 97, 1491-1500. doi: 10.1094/PHYTO-97-11-1491
- Marcos, J. F., González-Candelas, L., & Zacarias, L. (2005). Involvement of ethylene biosynthesis and perception in the susceptibility of citrus fruit to *Penicillium digitatum* infection and the accumulation of defense-related mRNAs. *Journal of Experimental Botany*, 56(148), 2183-2193. doi: 10.1093/jxb/eri218
- Mcdowell, J. M., & Dangl, J. L. (2000). Signal transduction in the plant immune response. *Trends in Biochemical Sciences*, 25(2), 79-82. doi: 10.1016/S0968-0004(99)01532-7
- Mengiste, T. (2012). Plant immunity to necrotrophs. *Annual Review of Phytopathology*, 50, 267-294. doi: 10.1146/annurev-phyto-081211-172955
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., & Breusegem, F. V. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science*, 9, 490-498. doi: 10.1016/j.tplants.2004.08.009
- Mysore, K. S., & Ryu, C. M. (2004). Nonhost resistance: how much do we know?. *Trends in Plant Sciences*, 9(2), 97-104. doi: 10.1016/j.tplants.2003.12.005
- Nüberger, T., & Lipka, V. (2005). Non-host resistance in plants: New insights into an old phenomenon. *Molecular Plant Pathology*, 6, 335-345. doi: 10.1111/J.1364-3703.2004.00279.X
- O'Brien, J. A., Daudi, A., Butt, V. S., & Bolwell, G. P. (2012). Reactive oxygen species and their role in plant defense and cell wall metabolism. *Planta*, 236, 765-779. doi: 10.1007/s00425-012-1696-9
- Prusky, D., Mcevoy, J. L., Saftner, R., Conway, W. S., & Jones, R. (2004). Relationship between host acidification and virulence of *Penicillium* spp. on apple and citrus fruit. *Phytopathology*, 94, 44-51. doi: 10.1094/PHYTO.2004.94.1.44
- Torres, M. A. (2010). ROS in biotic interactions. *Physiologia Plantarum*, 138, 414-429. doi: 10.1111/j.1399-3054.2009.01326.x
- Torres, M. A., Jones, J. D. G., & Dangl, J. L. (2006). Reactive oxygen species signaling in response to pathogens. *Plant Physiology*, 141, 373-378. doi: 10.1104/pp.106.079467
- Torres, R., Valentines, M. C., Usall, J., Viñas, I., & Larrigaudiere, C. (2003). Possible involvement of hydrogen peroxide in the development of resistance mechanisms in 'Golden Delicious' apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 27, 235-342. doi: 10.1016/S0925-5214(02)00110-2

- Torres, R., Teixidó, N., Usall, J., Abadias, M., Mir, M., Larrigaudiere, C., & Viñas, I. (2011). Anti-oxidant activity of oranges after infection with the pathogen *Penicillium digitatum* or treatment with the biocontrol agent *Pantoea agglomerans* CPA-2. *Biological Control*, 57, 103-109. doi: 10.1016/j.biocontrol.2011.01.006
- Treutter, D. (2006). Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 4, 147-157. doi: 10.1007/s10311-006-0068-8
- Valentines, M. C., Vilaplana, R., Torres, R., Usall, J., & Larrigaudiere, C. (2005). Specific roles of enzymatic browning and lignifications in apple disease resistance. *Postharvest Biology and Technology*, 36, 227-234. doi: 10.1016/j.postharvbio.2005.01.002
- Van-Loon, L. C., Geraats, B. P., & Linthorst, H. J. (2006). Ethylene as a modulator of disease resistance in plants. *Trends in plant science*, 11(4), 184-191. doi: 10.1016/j.tplants.2006.02.005
- Vázquez, B. M. E., Martínez, P. R. Á., & Fernández, E. E. (2001). Development of toxigenic *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* on kernels of native pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch] genotypes under different water activities. *Scientia Horticulturae*, 89(2), 155-169. doi: 10.1016/S0304-4238(00)00225-9
- Vilanova, L., Teixidó, N., Torres, R., Usall, J., & Viñas, I. (2012). The infection capacity of *P. expansum* and *P. digitatum* on apples and histochemical analysis of host response. *International Journal of Food Microbiology*, 157, 360-367. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.06.005
- Vilanova, L., Viñas, I., Torres, R., Usall, J., Jauset, A. M., & Teixidó, N. (2012). Infection capacities in the orange-pathogen relationship: Compatible (*Penicillium digitatum*) and incompatible (*Penicillium expansum*) interactions. *Food Microbiology*, 29, 56-66. doi: 10.1016/j.fm.2011.08.016
- Vilanova, L., Torres, R., Viñas, I., González-Candelas, L., Usall, J., Fiori, S.,...Teixidó, N. (2013). Wound response in orange as a resistance mechanism against *Penicillium digitatum* (pathogen) and *P. expansum* (non-host pathogen). *Postharvest Biology and Technology*, 78, 113-122. doi: 10.1016/j.postharvbio.2012.12.013
- Viñas, I., Abadias, M., Teixidó, N., Usall, J., & Torres, R. (2013). Aspectos Básicos de la Patología de la Poscosecha. In I. Viñas, I. Recasens, J. Usall, J. Graell (Eds.), *Poscosecha de manzana, pera y melocotón* (pp 203-242). Madrid España: Mundi Prensa.
- Wood, R. K. S. (2012). *Active defense mechanisms in plants*. NATO Advanced study institutes series. Series A, Life Sciences. Cape, Greece.
- Yu, O., & Jez, J. M. (2008). Nature's assembly line: biosynthesis of simple phenylpropanoids and polyketides. *The Plant Journal*, 54, 750-762. doi: 10.1111/j.1365-3113.2008.03436.x
- Zeng, K., Cao, J., & Jiang, W. (2006). Enhancing disease resistance in harvested mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Matisu') fruit by salicylic acid. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 694-698. doi: 10.1002/jsfa.2397
- Zhao, J., Davis, L. C., & Verpoorte, R. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 23(4), 283-333. doi: 10.1016/j.biotechadv.2005.01.003