

MEJORA DE CALIDAD DE PARTES DE PLANTAS

CAMPO DE LA INVENCION

[001] La presente invención se refiere a métodos para mejorar la tolerancia al estrés por frío posterior a la cosecha en partes de plantas, que comprenden aplicar a las partes de las plantas una cantidad eficaz de una mezcla de ácido abscísico y un jasmonato. La presente invención se refiere además a métodos para mejorar la calidad de partes de plantas sometidas a temperaturas frías posteriormente a la cosecha que comprenden aplicar a las partes de las plantas una cantidad eficaz de una mezcla de ácido (S)-abscísico y un jasmonato.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[002] El ácido (S)-abscísico ("S-ABA") es un regulador endógeno del crecimiento de las plantas que desempeña muchas funciones relacionadas con el crecimiento y el desarrollo. Por ejemplo, el S-ABA inhibe la germinación de las semillas al antagonizar las giberelinas que estimulan la germinación de las semillas. El S-ABA promueve la tolerancia al estrés y mantiene el crecimiento en condiciones de estrés (véase Sharp RE et al. *J Exp Bot*, 2004 55:2343-2351).

[003] Los jasmonatos son fitohormonas derivadas de ácidos grasos cíclicos y regulan las defensas de las plantas contra las plagas y regulan adicionalmente los procesos de desarrollo. El jasmonato de metilo ha sido bien estudiado y se ha descubierto que participa en el crecimiento de las raíces, el crecimiento de los órganos reproductivos y la senescencia de las plantas.

[004] Las partes de plantas tales como las frutas, por ejemplo paltas, granadas, bananas y mangos, verduras, por ejemplo zanahorias, lechuga y brócoli y las flores son cultivos importantes en los EE.UU. y en todo el mundo.

Es cada vez más importante obtener partes de vegetales de alta calidad. Actualmente los productores enfrentan el desafío de producir cultivos con el color adecuado y el sabor óptimo, ya que los consumidores esperan una alta calidad durante todo el año.

[005] La refrigeración de las partes de plantas puede hacer que se obtenga una baja calidad. Específicamente, el enfriamiento puede dañar muchas de las cualidades de las partes de plantas que desea el consumidor, por ejemplo su textura, color, firmeza, jugosidad, aroma y sabor. El daño por frío también puede reducir los puntajes hedónicos, que son puntajes otorgadas por evaluaciones de paneles de consumidores que realizan una degustación. Sin embargo, frecuentemente se usa refrigeración para impedir la maduración y retardar el crecimiento de hongos en las partes de plantas, de manera que se pueda prolongar el tiempo desde la cosecha hasta la venta y la vida útil de estante, ya que tanto las partes de plantas demasiado maduras como el crecimiento de hongos son indeseables para el consumidor.

[006] Por lo tanto, en la técnica existe la necesidad de disponer de un método para mejorar la tolerancia al frío y mejorar la calidad de las partes de plantas que se someten a temperaturas frías de manera que para el consumidor puedan haber disponibles partes de plantas de mayor calidad.

SÍNTESIS DE LA INVENCION

[007] En un aspecto, la presente invención se refiere a métodos para mejorar la tolerancia al estrés por frío posterior a la cosecha en partes de plantas que comprenden aplicar a las partes de plantas una cantidad eficaz de una mezcla de ácido (S)-abscísico ("S-ABA") y un jasmonato.

[008] En otro aspecto, la presente invención se refiere además a

métodos para mejorar la calidad de partes de plantas sometidas a temperaturas frías posteriormente a la cosecha que comprenden aplicar a las partes de plantas una cantidad eficaz de una mezcla de S-ABA y un jasmonato.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[009] El solicitante descubrió inesperadamente que una mezcla de ácido (S)-abscísico (“S-ABA”) y un jasmonato mejoraba de manera sinérgica la tolerancia al estrés por frío posterior a la cosecha en muchas partes de plantas. Además, los Inventores descubrieron inesperadamente que una mezcla de S-ABA y jasmonato mejoraba la calidad de las partes de plantas cuando dichas partes de plantas se someten a temperaturas frías posteriormente a la cosecha.

[010] En una forma de realización, la presente invención se refiere a métodos para mejorar la tolerancia al estrés por frío posterior a la cosecha en partes de plantas que comprenden aplicar a las partes de plantas una cantidad eficaz de una mezcla de S-ABA y un jasmonato.

[011] En una forma de realización preferida, las aplicaciones de la mezcla de la presente invención se realizan entre aproximadamente 4 semanas antes de la cosecha y aproximadamente 2 semanas después de la cosecha. En una forma de realización más preferida, la aplicación se realiza después de la cosecha.

[012] En otra forma de realización preferida, las partes de plantas se someten a temperaturas frías después de la aplicación de la mezcla de la presente invención, preferiblemente a entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 20 grados Celsius y más preferiblemente a entre aproximadamente 2 y aproximadamente 10 grados Celsius.

[013] En otra forma de realización preferida, la calidad de las partes de

plantas mejora en comparación con las partes de plantas que no recibieron una aplicación de la mezcla de la presente antes de ser sometidas a temperaturas frías.

[014] En otra forma de realización preferida, la mezcla de la presente invención se puede aplicar en una relación en peso de entre aproximadamente 1.000:1 y aproximadamente 1:1.000 de S-ABA a jasmonato, más preferiblemente entre aproximadamente 500:1 y aproximadamente 1:500 e incluso más preferiblemente entre aproximadamente 100:1 y aproximadamente 1:100, aún más preferiblemente entre aproximadamente 10:1 y aproximadamente 1:10 y lo más preferiblemente entre aproximadamente 3:1 y aproximadamente 1:3.

[015] En otra forma de realización preferida, el S-ABA se puede aplicar en una concentración de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 5.000 partes por millón ("ppm"), más preferiblemente entre aproximadamente 10 y aproximadamente 1.000 ppm, incluso más preferiblemente entre aproximadamente 50 y aproximadamente 1.000 ppm y aún más preferiblemente en aproximadamente 90, aproximadamente 320 o aproximadamente 870 ppm.

[016] En otra forma de realización preferida, el jasmonato se puede aplicar en una concentración de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 5.000 ppm, más preferiblemente entre aproximadamente 10 y aproximadamente 1.000 ppm, incluso más preferiblemente entre aproximadamente 50 y aproximadamente 1.000 ppm y aún más preferiblemente en aproximadamente 70, aproximadamente 270 o aproximadamente 740 ppm.

[017] En otra forma de realización, la presente invención se refiere a métodos para mejorar la calidad de partes de plantas sometidas a temperaturas

frías posteriormente a la cosecha que comprenden aplicar a las partes de plantas una cantidad eficaz de una mezcla de S-ABA y un jasmonato.

[018] Los métodos de la presente invención pueden excluir la aplicación de nicotinamida.

[019] Los métodos de la presente invención pueden consistir en aplicar una cantidad eficaz de una mezcla de S-ABA y un jasmonato como únicos ingredientes agrícolamente activos aplicados.

[020] En una forma de realización preferida, las partes de plantas que se pueden beneficiar con los métodos de la presente invención incluyen, de manera no taxativa, frutas, verduras, flores y trasplantes.

[021] Las frutas que se pueden beneficiar con los métodos de la presente invención incluyen, de manera no taxativa, paltas, granadas, bananas, mangos, ananás, berenjenas, tomates, pimientos morrones, arándanos, frambuesas, frutillas, moras, frutas pomáceas tales como manzanas y peras, incluyendo a las peras europeas y peras asiáticas, uvas, kiwis, sandías y cítricas tales como naranjas, pomelos, mandarinas, tangerinas, limones y limas, y cultivares, variedades e híbridos de los mismos.

[022] Las verduras que se pueden beneficiar con los métodos de la presente invención incluyen, de manera no taxativa, arvejas, zanahorias, maíz dulce, batatas, papas, pepinos, lechuga, repollo, brócoli, coliflor, albahaca dulce, espinacas, y remolachas y cultivares, variedades e híbridos de las mismas.

[023] Las flores que se pueden beneficiar con los métodos de la presente invención incluyen, de manera no taxativa, claveles, rosas y tulipanes y cultivares, variedades e híbridos de los mismos.

[024] Las partes de plantas de cultivares, variedades e híbridos pueden

provenir de plantas que pueden haber sido producidas mediante hibridación natural, plantas que pueden haber sido obtenidas como resultado de una mutación, plantas híbrida F1 o plantas transgénicas (que también se denominan “plantas modificadas genéticamente”).

[025] El término "planta híbrida F1" se refiere a una planta de una primera generación filial que se produce hibridando entre sí dos variedades diferentes, y por lo general es una planta que tiene un rasgo mejorado respecto de cualquiera de sus progenitores. El término "planta transgénica" se refiere a una planta que se produce mediante la introducción en la planta de un gen extraño procedente de otro organismo, por ejemplo de un microorganismo, y que tiene una propiedad que no puede ser adquirida fácilmente mediante fitomejoramiento por hibridación, inducción de una mutación ni mutación o recombinación natural en un ambiente natural.

[026] Algunos ejemplos de técnicas para la producción de las plantas mencionadas anteriormente incluyen una técnica de fitomejoramiento convencional, una técnica transgénica, una técnica de fitomejoramiento basada en genoma, una nueva técnica de fitomejoramiento y una técnica de edición del genoma. La técnica de fitomejoramiento convencional es una técnica para producir una planta que tiene una propiedad deseable mediante mutación o hibridación. La técnica transgénica es una técnica para conferir una nueva propiedad de un organismo específico aislando un gen (ADN) de interés del organismo y luego introduciendo el gen (ADN) en el genoma de otro organismo diana, y una técnica antisentido o una técnica de ARN interferencia es una técnica para conferir una propiedad nueva o mejorada a una planta silenciando otro gen que se encuentra en la planta.

[027] La técnica de fitomejoramiento basada en genoma es una técnica para aumentar la eficiencia del fitomejoramiento mediante el uso de información genómica, e incluye una técnica de fitomejoramiento y selección genómica de un marcador de ADN (que también se denomina "marcador de genoma" o "marcador de gen"). Por ejemplo, el fitomejoramiento con marcador de ADN es un método en que se selecciona una descendencia que tiene un gen de un rasgo útil deseado entre muchas crías híbridas usando un marcador de ADN que consiste en una secuencia de ADN capaz de servir como indicador de la posición en el genoma de un gen de un rasgo útil específico. El análisis de una descendencia híbrida de una planta en su etapa de plántula utilizando el marcador de ADN tiene una característica tal que resulta posible acortar el tiempo necesario para un fitomejoramiento eficaz.

[028] La selección genómica es una técnica en la que se produce una ecuación de predicción a partir de un fenotipo y de la información genómica obtenidos de antemano y luego se predice una propiedad a partir de la ecuación de predicción y la información genómica sin llevar a cabo la evaluación del fenotipo. La selección genómica puede contribuir al aumento de la eficiencia del fitomejoramiento. Una "nueva técnica de fitomejoramiento" es un término colectivo para una variedad de técnicas de fitomejoramiento, que incluyen a las técnicas de biología molecular. Algunos ejemplos de nuevas técnicas de fitomejoramiento incluyen técnicas tales como cisgénesis/intragénesis, mutagénesis dirigida por oligonucleótidos, metilación del ADN dependiente de ARN, edición del genoma, injerto en un pie de injerto o púa de injerto genéticamente modificado, fitomejoramiento inverso, agroinfiltración y tecnología de producción de semillas (SPT, por las iniciales en inglés de *Seed Production*

Technology). La técnica de edición del genoma es una técnica que convierte información genética de una manera específica respecto de una secuencia y permite la adición, eliminación o sustitución de una secuencia de pares de bases de ADN, la adición, eliminación o sustitución de una secuencia de aminoácidos, la introducción de una secuencia de pares de bases de ADN extraña que incluye genes y regiones reguladoras, y otras técnicas similares. Algunos ejemplos de herramientas para estas técnicas incluyen la nucleasa con dedos de zinc (ZFN, por las iniciales en inglés de *Zinc-Finger Nuclease*), TALEN, CRISPR/Cas9, CRISPER/Cpf1 y la meganucleasa que puede escindir el ADN de una manera específica respecto de una secuencia, y una técnica de modificación del genoma específica respecto de la secuencia que utiliza la nickasa CAS9, Target-AID y similares que se producen mediante cualquiera de las modificaciones de las herramientas mencionadas anteriormente. Un especialista en la materia comprenderá que en el futuro se desarrollarán técnicas capaces de editar secuencias genómicas, modificar la transcripción de una secuencia de ADN a una secuencia de ARN, modificar secuencias de ARN, modificar la traducción de secuencias de ARN a secuencias de aminoácidos, modificar una secuencia de aminoácidos y/o modificar el plegamiento de una secuencia de aminoácidos y/o agrupamiento de secuencias de aminoácidos en una proteína y que cualquiera de estas técnicas o todas ellas pueden ser beneficiosas para modificar el fenotipo de una planta. En la presente se prevén plantas cuyos fenotipos hayan sido modificados mediante todas las técnicas conocidas y futuras capaces de modificar el fenotipo de una planta. Algunos ejemplos de las partes de plantas mencionadas anteriormente incluyen las partes de plantas mencionadas en la base de datos de registro de cultivos genéticamente modificados (GM

APPROVAL DATABASE) en un sitio de información electrónica del INTERNATIONAL SERVICE for the ACQUISITION of AGRI-BIOTECH APPLICATIONS, ISAAA) (<http://www.isaaa.org/>).

[029] En una forma de realización preferida, las mezclas de la presente invención se pueden disponer en una composición que comprende uno o más excipientes que se seleccionan entre el grupo que consiste en: solventes, agentes antiaglomerantes, estabilizantes, antiespumantes, agentes deslizantes, humectantes, dispersantes, agentes espesantes, emulsionantes, penetrantes, coadyuvantes, sinergistas, polímeros, propelentes y conservantes.

[030] Las mezclas o composiciones de la presente invención se pueden aplicar por cualquier medio conveniente. Los especialistas en la materia están familiarizados con los modos de aplicación que incluyen, de manera no taxativa: pulverización, aplicación con pincel, remojo, inmersión, empapado, aplicación de gránulos, aplicación de líquidos presurizados (aerosoles), vapor y nebulización. La pulverización incluye fumigaciones ambientales. Los aerosoles para fumigación ambiental incluyen aerosoles y productos para nebulización térmica. Además, las mezclas y la composición se pueden mezclar con una cera y/o un recubrimiento comestible y se pueden aplicar a las partes de las plantas.

[031] Las mezclas de la presente composición se pueden aplicar de manera simultánea o en secuencia.

[032] Tal como se la usa en la presente, la frase “temperaturas frías” se refiere a aquellas temperaturas inferiores a 25 grados Celsius causan una disminución de la calidad de las partes de plantas.

[033] Tal como se la usa en la presente, la frase “calidad de las partes de plantas” se refiere a cualquier característica de las partes de plantas que sea

deseable para el consumidor, incluyendo, de manera no taxativa, a la textura, color, firmeza, jugosidad, aroma y sabor. La “calidad de las partes de plantas” también puede referirse a puntajes en la escala hedónica, que son puntajes otorgadas por evaluaciones de paneles de degustación de los consumidores.

[034] Tal como se usa en la presente, una “cantidad eficaz” se refiere a la cantidad de S-ABA y/o un jasmonato que mejorará la tolerancia al estrés por frío y/o la calidad de las partes de las plantas. La “cantidad eficaz” variará dependiendo de las concentraciones de S-ABA y jasmonato, de la especie, variedad, cultivar o híbrido de planta que se esté tratando, de la severidad del estrés, del resultado que se desee y de la etapa de vida de las plantas, entre otros factores. Por lo tanto, no siempre es posible especificar una “cantidad eficaz” exacta. Sin embargo, la “cantidad eficaz” apropiada en cualquier caso individual podrá ser determinada por un especialista en la materia.

[035] Tal como se usa en la presente, “mejorar” se refiere a que la planta tiene una mayor calidad de la que habría tenido de no haber sido tratada mediante los métodos de la presente invención.

[036] Tal como se los usa en la presente, todos los valores numéricos relacionados con cantidades, porcentajes en peso y similares se definen como “aproximadamente” o “alrededor de” cada valor particular, es decir, más o menos 10 % (± 10 %). Por ejemplo, la frase “por lo menos 5 % en peso” debe entenderse como “por lo menos entre 4,5 % y 5,5 % en peso”. Por lo tanto, las cantidades comprendidas dentro del 10 % de los valores reivindicados se consideran incluidos dentro del alcance de las reivindicaciones.

[037] Los artículos “un”, “una” y “el/la” se usan con la intención de incluir tanto al plural como al singular, a no ser que el contexto indique claramente otra

cosa.

[038] Las formas de realización divulgadas son simplemente ejemplos de formas de realización de los conceptos inventivos divulgados en la presente y no deben considerarse limitativas, a no ser que las reivindicaciones indiquen expresamente otra cosa.

[039] Los siguientes ejemplos se ofrecen con la intención de ilustrar la presente invención y mostrar a los especialistas en la materia cómo utilizar las formulaciones de la invención. Los mismos no se ofrecen con la intención de ser limitantes de ninguna manera.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Mejora en la calidad de la fruta de carozo

Método

[040] Se cosecharon duraznos de la variedad Flamin' Fury® y se mantuvieron a la temperatura ambiente hasta el tratamiento. Los duraznos se dividieron en 9 conjuntos iguales. Cada tipo de tratamiento contenía 15 duraznos y se repitió 3 veces hasta un total de 45 duraznos por tratamiento. Para el tratamiento, se aplicaron a los duraznos agua, ácido (S)-abscísico ("S-ABA"), jasmonato de metilo o una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo después de la cosecha mediante un baño de 1 minuto en las siguientes concentraciones: 1) solo agua; 2) S-ABA 0,33 milimolar ("mM"); 3) S-ABA 3,3 mM; 4) jasmonato de metilo 0,33 mM; 5) jasmonato de metilo 3,3 mM; 6) S-ABA 0,33 mM y jasmonato de metilo 0,33 mM; 7) S-ABA 0,3 mM y jasmonato de metilo 3,3 mM; 8) S-ABA 3,3 mM y jasmonato de metilo 0,33 mM o 9) S-ABA 3,3 mM y jasmonato de metilo 3,3 mM. Cada tratamiento incluyó 0,025 % de Latron B-1956® (que se puede obtener de J.R. Simplot Company) como coadyuvante. A continuación, todos los

duraznos se secaron durante 30 minutos y luego se almacenaron a 5 grados centígrados durante 4 semanas. Después del almacenamiento en frío, todos los duraznos se dejaron a la temperatura ambiente durante 1 día y luego se evaluó el pardeamiento de la pulpa.

[041] Se determinó el pardeamiento de la pulpa usando una escala de 6 puntos desarrollada por Crisosto G.M. 2015, donde un puntaje de 1 = sin pardeamiento, 2 = pardeamiento muy ligero en la cavidad de la semilla, 3 = pardeamiento leve en la cavidad de la semilla y el tejido circundante, 4 = pardeamiento moderado en menos del 50 % de la pulpa, 5 = pardeamiento severo en entre 50 % y 75 % de la pulpa y 6 = pardeamiento extremo que abarca la mayor parte de la pulpa. Un puntaje de pardeamiento de la pulpa mayor de 3 se determinó como un "incidente de pardeamiento de la pulpa" y un puntaje menor de 3 se determinó como "fruta sana" para los fines de la eficacia.

[042] Para determinar el porcentaje de duraznos que no desarrollaron una cantidad indeseable de pardeamiento de la pulpa (es decir, "fruta sana"), el número total de duraznos con un puntaje de pardeamiento de la pulpa menor de 3 se dividió por el número total de duraznos del conjunto.

[043] Para determinar si las mezclas dieron resultados inesperados, se dividió la eficacia combinada observada ("OCE", por las iniciales en inglés de *Observed Combined Efficacy*) por la eficacia combinada esperada ("ECE", por las iniciales en inglés de *Expected Combined Efficacy*) donde la ECE esperada se calcula mediante el método de Abbott:

$$ECE = A + B - (AB),$$

[044] en donde ECE es la eficacia combinada esperada y en donde A y B son el puntaje de calidad provisto por la aplicación de los ingredientes activos

individuales. Si la relación entre la OCE de la mezcla y la ECE de la mezcla es mayor que 1, entonces en la mezcla hay presentes interacciones mayores a las esperadas. (Gisi, Synergistic Interaction of Fungicides in Mixtures, The American Phytopathological Society, 86:11, 1273-1279, 1996). Los resultados se pueden ver a continuación en la Tabla 1.

Tabla 1

	Concentración de Ingrediente Activo	% de frutos saludables	Cambio en veces respecto del Control	Relación OCE:ECE
Control	-	12,8	-	-
S-ABA	0,33 mM	17,3	0,35	-
S-ABA	3,3 mM	8,6	-0,33	-
MJ	0,33 mM	28,0	1,18	-
MJ	3,3 mM	41,8	2,26	-
S-ABA MJ	0,33 mM 0,33 mM	34,1	1,66	1,5
S-ABA MJ	0,33 mM 3,3 mM	73,5	4,73	2,6
S-ABA MJ	3,3 mM 0,33 mM	43,9	2,43	1,9
S-ABA MJ	3,3 mM 3,3 mM	49,2	2,84	1,1

Resultados

[045] Como se ve en la anterior Tabla 1, la aplicación de una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo mejoró la calidad de la fruta de carozo en una

cantidad mayor a la esperada en comparación con la suma de mejoras de calidad provistas por la aplicación de cada uno de ellos por sí solo en cada una de las relaciones de concentración de 10:1, 1:1 y 1:10.

Ejemplo 2: Mejora en la calidad de la fruta de carozo

Método

[046] Se cosecharon duraznos de la variedad Summer Flame 34 y hasta el tratamiento se mantuvieron a la temperatura ambiente. Los duraznos se dividieron en 4 conjuntos iguales. Cada tipo de tratamiento contenía 32 duraznos y se repitió 3 veces hasta un total de 96 duraznos por tratamiento. Para el tratamiento se mezclaron agua, ácido (S)-abscísico ("S-ABA"), jasmonato de metilo o una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo en cera Prima Fresh 55EU y se aplicaron en una mini línea de envasado semicomercial para simular las condiciones del envasado comercial. Los ingredientes activos se mezclaron con la cera en las siguientes concentraciones: 1) cera únicamente; 2) S-ABA 1,2 mM; 3) jasmonato de metilo 1,2 mM; 4) S-ABA 1,2 mM y jasmonato de metilo 1,2 mM. Todos los duraznos se almacenaron inmediatamente a 5 grados centígrados durante 25 días. Después del almacenamiento en frío, todos los duraznos se dejaron a la temperatura ambiente durante 3 días y luego se evaluó el pardeamiento de la pulpa como se describió anterior en el Ejemplo 1 y también la harinosidad de la pulpa.

[047] Se determinó la harinosidad de la pulpa usando una escala de 3 puntos desarrollada por Crisosto G.M. 2015, donde un puntaje de 1 = fruta jugosa, 2 = fruta moderadamente harinosa (pequeña cantidad de jugo liberada al exprimirla) y 3 = fruta muy harinosa (casi no se libera jugo al exprimirla). Un puntaje de harinosidad de la pulpa de 2 o más se determinó como un "incidente

de harinosidad de la pulpa" y un puntaje de 1 se determinó como "fruta sana" para los fines de la eficacia.

[048] La determinación de resultados inesperados se calculó usando el método descrito en el Ejemplo 1 anterior. Los resultados se pueden ver a continuación en la Tabla 2 para el pardeamiento de la pulpa y en la Tabla 3 para la harinosidad de la pulpa,.

Tabla 2

	Concentración de Ingrediente Activo	Puntaje promedio de amarronamiento de la pulpa	Cambio en veces respecto del Control	Relación OCE:ECE
Control	-	3,08	-	-
S-ABA	1,2 mM	3,03	-0,016	-
MJ	1,2 mM	2,79	-0,09	-
S-ABA MJ	1,2 mM 1,2 mM	2,58	-0,16	1,5

Tabla 3

Harinosidad de la pulpa	Concentración de Ingrediente activo	Puntaje promedio de harinosidad de la pulpa	Cambio en veces respecto del Control	Relación OCE:ECE
Control	-	1,67	-	-
S-ABA	1,2 mM	1,66	-0,006	-
MJ	1,2 mM	1,50	-0,10	-
S-ABA MJ	1,2 mM 1,2 mM	1,39	-0,17	1,5

Resultados

[049] Como se ve en las anteriores Tablas 2 y 3, la aplicación de una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo mejoró la calidad de la fruta de carozo en una cantidad mayor a la esperada en comparación con la suma de mejoras de calidad provistas por la aplicación de cada uno de ellos por sí solo en cada una de las relaciones de concentración de 1:1 y 1:10.

Ejemplo 3: Mejora en la calidad de los pepinos

Método

[050] Se cosecharon pepinos, se enceraron y se mantuvieron a la temperatura ambiente hasta el tratamiento. Los pepinos se dividieron en 9 conjuntos iguales. Cada tipo de tratamiento contenía entre 11 y 13 pepinos y se repitió 3 veces hasta un total de entre 33 y 39 pepinos por tratamiento. Para el tratamiento, después de la cosecha se aplicaron a los pepinos agua, ácido (S)-abscísico ("S-ABA"), jasmonato de metilo o una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo mediante un baño de 2 minutos en las siguientes concentraciones: 1) solo agua; 2) S-ABA 0,3 milimolar ("mM"); 3) S-ABA 3 mM; 4) jasmonato de metilo 0,3 mM; 5) jasmonato de metilo 3 mM; 6) S-ABA 0,3 mM y jasmonato de metilo 0,3 mM; 7) S-ABA 0,3 mM y jasmonato de metilo 3 mM; 8) S-ABA 3 mM y jasmonato de metilo 0,3 mM o 9) S-ABA 3 mM y jasmonato de metilo 3 mM. Cada tratamiento incluyó 0,025 % de Latron B-1956® (que se puede obtener de J.R. Simplot Company) como coadyuvante. A continuación, todos los pepinos se secaron durante 30 minutos y luego se almacenaron a 5 grados centígrados durante 11,5 días. Después del almacenamiento en frío, todos los pepinos se dejaron a la temperatura ambiente durante 4 días y luego se evaluaron para detectar fugas de electrolitos y deterioro en cada uno de los días 1, 2, 3 y 4.

[051] Para detectar fugas de electrolitos, se cortaron en rodajas los pepinos y se tomó una muestra central (es decir, un disco) de 1 centímetro de cada rodaja. En cada tubo de centrífuga de 50 mililitros que contenía 30 mililitros de agua desionizada se colocaron 10 discos y se agitaron durante 25 minutos. Se midió la electroconductividad al tiempo cero tan pronto como se procesaron los tratamientos (C0). Después de agitar los discos en los tubos de centrífuga se volvió a medir la electroconductividad (C1). Por último, se midió la electroconductividad después de hervir la muestra de pepinos durante 20 minutos y luego enfriarla rápidamente (C2). El % de fuga de electrolitos se calculó mediante la siguiente fórmula: $(C1-C0)/C2$.

[052] La evaluación del deterioro se realizó contando el número de pepinos que presentaban deterioro y calculando el porcentaje de pepinos afectados. La gravedad del deterioro se evaluó usando un sistema de puntaje del 1 al 3, donde 1 = bajo, 2 = medio y 3 = alto. La fruta sana se calculó restando del 100 % el % de incidencia de enfermedades.

[053] La determinación de resultados inesperados se calculó usando el método descrito en el Ejemplo 1 anterior. Los resultados se pueden ver a continuación en la Tabla 4 para fugas de electrolitos y en la Tabla 5 para el deterioro.

Tabla 4

	Concentración de Ingrediente activo	Fuga de electrolitos %	Cambio en veces respecto del Control	Relación OCE:ECE
Control	-	64,2	-	-
S-ABA	0,3 mM	61,3	-0,05	-

S-ABA	3 mM	61,3	-0,05	-
MJ	0,3 mM	60,3	-0,06	-
MJ	3 mM	59,7	-0,07	-
S-ABA MJ	0,3 mM 0,3 mM	42,6	-0,34	3,1
S-ABA MJ	0,3 mM 3 mM	48,9	-0,24	2,0
S-ABA MJ	3 mM 0,3 mM	37,5	-0,42	3,8
S-ABA MJ	3 mM 3 mM	61,5	-0,04	0,4

Tabla 5

	Concentración de Ingrediente activo	% de frutos saludables	Cambio en veces respecto del Control	Relación OCE:ECE
Control	-	78,4	-	-
S-ABA	0,3 mM	82,1	0,05	-
S-ABA	3 mM	55,7	-0,29	-
MJ	0,3 mM	61,5	-0,22	-
MJ	3 mM	71,4	-0,09	-
S-ABA MJ	0,3 mM 0,3 mM	56,6	-0,28	1,8
S-ABA MJ	0,3 mM 3 mM	84,6	0,08	-2,1

S-ABA MJ	3 mM 0,3 mM	47,0	-0,40	0,7
S-ABA MJ	3 mM 3 mM	64,1	-0,18	0,5

Resultados

[054] Como se ve en la anterior Tabla 4, la aplicación de una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo mejoró la calidad de los pepinos en una cantidad mayor a la esperada en comparación con la suma de mejoras de calidad provistas por la aplicación de cada uno de ellos por sí solo en cada una de las relaciones de concentración de 101:1, 1:1 y 1:10.

Ejemplo 4: Mejora en la calidad del mango (profético)

Método

[055] Se cosecharán mangos y para el tratamiento se dividirán en grupos. Para el tratamiento, después de la cosecha a los mangos se les aplicarán agua, ácido (S)-abscísico ("S-ABA"), jasmonato de metilo o una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo mediante un baño de entre 1 y 2 minutos en las siguientes concentraciones: 1) solo agua; 2) S-ABA 0,3 milimolar ("mM"); 3) S-ABA 3 mM; 4) jasmonato de metilo 0,3 mM; 5) jasmonato de metilo 3 mM; 6) S-ABA 0,3 mM y jasmonato de metilo 0,3 mM; 7) S-ABA 0,3 mM y jasmonato de metilo 3 mM; 8) S-ABA 3 mM y jasmonato de metilo 0,3 mM o 9) S-ABA 3 mM y jasmonato de metilo 3 mM. Cada tratamiento incluirá Latron B-1956® al 0,025 % (que se puede obtener de J.R. Simplot Company) como coadyuvante. Luego de eso, todos los mangos se secarán durante 30 minutos y luego se almacenarán a temperaturas frías durante entre una y varias semanas. Después del almacenamiento en frío, todos los mangos se dejarán a la temperatura ambiente

durante entre uno y varios días y luego se evaluarán para detectar los síntomas de lesiones por frío.

[056] Se evaluarán los síntomas visuales de lesiones por frío (oscurecimiento de las lenticelas, picaduras en la piel, escaldaduras, maduración desigual) de cada mango individual antes y después de la transferencia de las supuestas temperaturas frías a la temperatura ambiente usando una escala de puntaje en la cual 1 = severo, >50 % de la superficie del fruto presenta daño; 2 = moderado, 25–50 % de daño por frío; 3 = leve, hasta un 25 % de picaduras y/o escaldaduras; 4 = trazas (pequeñas picaduras), 2–5 % de la superficie total del fruto dañada; 5 = sin síntomas visibles de lesión.

[057] Se evaluará la firmeza de la fruta individualmente en cada mango presionando suavemente con la mano y usando una escala de puntaje en la cual 1 = completamente blando, 2 = blandura avanzada, 3 = primer ablandamiento, 4 = firme al tacto, 5 = muy firme al tacto.

[058] Se evaluará individualmente el marchitamiento de cada mango usando una escala de puntaje visual en la cual 1 = extremadamente marchito, arrugado y seco, no aceptable en condiciones normales; 2 = marchitamiento severo, definitivamente objetable; 3 = marchitamiento moderado, evidente, volviéndose objetable; 4 = signos leves y menores de marchitamiento, no objetables; 5 = ninguno, fresco en el campo, sin signos de marchitamiento.

[059] El deterioro de cada mango se evaluará individualmente usando una escala de puntaje visual modificada de Horsfall y Barratt (1945) donde 1 = del 76 % al 100 % de deterioro, deterioro severo a extremo (el mango está parcial o completamente podrido); 2 = del 51 % al 75 % de deterioro, deterioro moderado a severo; 3 = del 26 % al 50 % de deterioro, deterioro leve a moderado (manchas

con deterioro y algo de crecimiento de micelio); 4 = del 1 % al 25 % de deterioro, probable deterioro (manchas menores hundidas de color marrón/grisáceo); 5 = 0 %, sin deterioro.

Resultados

[060] Se espera que, como se observa en los duraznos, la aplicación de una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo mejore la calidad del mango en una cantidad mayor de lo esperado en comparación con la suma de mejoras de calidad provistas por la aplicación de cada uno de los mismos por sí solo.

Ejemplo 5: Mejora en la calidad de la palta (profético)

Método

[061] Se cosecharán paltas y para el tratamiento se dividirán en grupos. Para el tratamiento, después de la cosecha a las paltas se les aplicarán agua, ácido (S)-abscísico ("S-ABA"), jasmonato de metilo o una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo mediante un baño de entre 1 y 2 minutos en las siguientes concentraciones: 1) solo agua; 2) S-ABA 0,3 milimolar ("mM"); 3) S-ABA 3 mM; 4) jasmonato de metilo 0,3 mM; 5) jasmonato de metilo 3 mM; 6) S-ABA 0,3 mM y jasmonato de metilo 0,3 mM; 7) S-ABA 0,3 mM y jasmonato de metilo 3 mM; 8) S-ABA 3 mM y jasmonato de metilo 0,3 mM o 9) S-ABA 3 mM y jasmonato de metilo 3 mM. Cada tratamiento incluirá Latron B-1956® al 0,025 % (que se puede obtener de J.R. Simplot Company) como coadyuvante. Luego de eso, todas las paltas se secarán durante 30 minutos y luego se almacenarán a temperaturas frías durante entre una y varias semanas. Después del almacenamiento en frío, todas las paltas se dejarán a la temperatura ambiente durante entre uno y varios días y luego se evaluarán para detectar los síntomas de lesiones por frío.

[062] Se evaluarán individualmente los síntomas visuales de lesiones por

frío, incluyendo los defectos en la cáscara de la fruta y los defectos en la pulpa de la fruta de cada palta, antes y después de la transferencia de las supuestas temperaturas frías a la temperatura ambiente, usando una escala de puntaje. Para los defectos en la cáscara de la fruta, la escala será una escala relativa con un puntaje de 0 a 3, donde 0 = sin lesiones por frío, 1 = hasta un 25 % del área superficial muestra lesiones por frío, 2 = del 26 % al 50 % del área superficial con lesiones por frío y 3 = del 50 % al 100 % con lesiones por frío. Para los defectos en la pulpa de la fruta, la escala será una escala relativa con puntuación de 0 a 3, donde 0 = sin aparición de pardeamiento vascular, 1 = pardeamiento vascular leve, 2 = pardeamiento vascular moderado y 3 = pardeamiento vascular severo. El pardeamiento vascular es el pardeamiento de las hebras vasculares longitudinales.

Resultados

[063] Se espera que, como se observa en los duraznos, la aplicación de una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo mejore la calidad de la palta en una cantidad mayor de lo esperado en comparación con la suma de mejoras de calidad provistas por la aplicación de cada uno de ellos por sí solo.

Ejemplo 6: Mejora en la calidad de los pimientos morrones (profético)

Método

[064] Se cosecharán pimientos morrones y para el tratamiento se dividirán en grupos. Para el tratamiento, después de la cosecha a los pimientos morrones se les aplicarán agua, ácido (S)-abscísico ("S-ABA"), jasmonato de metilo o una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo mediante un baño de entre 1 y 2 minutos en las siguientes concentraciones: 1) solo agua; 2) S-ABA 0,3 milimolar ("mM"); 3) S-ABA 3 mM; 4) jasmonato de metilo 0,3 mM; 5) jasmonato

de metilo 3 mM; 6) S-ABA 0,3 mM y jasmonato de metilo 0,3 mM; 7) S-ABA 0,3 mM y jasmonato de metilo 3 mM; 8) S-ABA 3 mM y jasmonato de metilo 0,3 mM o 9) S-ABA 3 mM y jasmonato de metilo 3 mM. Cada tratamiento incluirá Latron B-1956® al 0,025 % (que se puede obtener de J.R. Simplot Company) como coadyuvante. Luego de eso, todos los pimientos morrones se secarán durante 30 minutos y luego se almacenarán a temperaturas frías durante entre una y varias semanas. Después del almacenamiento en frío, todos los pimientos morrones se dejarán a la temperatura ambiente durante entre uno y varios días y luego se evaluarán para detectar los síntomas de lesiones por frío.

[065] Los síntomas visuales de lesión por frío, incluyendo picaduras hundidas en la piel o el cáliz y la incidencia de deterioro de cada pimiento morrón individual, se evaluarán antes y después de la transferencia de las supuestas temperaturas frías a la temperatura ambiente usando una escala de puntaje. Para las picaduras hundidas, la escala será una escala relativa con un puntaje de 0 a 3, donde 0 = sin lesiones por frío, 1 = hasta un 25 % del área superficial muestra lesiones por frío, 2 = del 26 % al 50 % del área superficial con lesiones por frío y 3 = del 50 % al 100 % con lesiones por frío. Para la incidencia del deterioro, para cada grupo de tratamiento la cantidad de pimientos morrones que muestren evidencia visual de deterioro se dividirá por la cantidad total de pimientos morrones.

Resultados

[066] Se espera que, como se observa en los duraznos, la aplicación de una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo mejore la calidad de los pimientos morrones en una cantidad mayor de lo esperado en comparación con la suma de mejoras de calidad provistas por la aplicación de cada uno de ellos por sí solo.

Ejemplo 7: Mejora en la calidad de las bananas (profético)

Método

[067] Se cosecharán bananas y para su tratamiento se dividirán en grupos. Para el tratamiento, después de la cosecha a las bananas se les aplicarán agua, ácido (S)-abscísico ("S-ABA"), jasmonato de metilo o una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo mediante un baño de entre 1 y 2 minutos en las siguientes concentraciones: 1) solo agua; 2) S-ABA 0,3 milimolar ("mM"); 3) S-ABA 3 mM; 4) jasmonato de metilo 0,3 mM; 5) jasmonato de metilo 3 mM; 6) S-ABA 0,3 mM y jasmonato de metilo 0,3 mM; 7) S-ABA 0,3 mM y jasmonato de metilo 3 mM; 8) S-ABA 3 mM y jasmonato de metilo 0,3 mM o 9) S-ABA 3 mM y jasmonato de metilo 3 mM. Cada tratamiento incluirá Latron B-1956® al 0,025 % (que se puede obtener de J.R. Simplot Company) como coadyuvante. Luego de eso, todas las bananas se secarán durante 30 minutos y luego se almacenarán a temperaturas frías durante entre una y varias semanas. Después del almacenamiento en frío, todas las bananas se dejarán a la temperatura ambiente durante entre uno y varios días y luego se evaluarán para detectar los síntomas de lesiones por frío.

[068] Se evaluarán individualmente en cada banana los síntomas visuales de lesiones por frío, incluyendo decoloración de la superficie, color opaco o ahumado, tejidos subepidérmicos que revelan vetas de color marrón oscuro, falta de maduración y pardeamiento de la pulpa, antes y después de la transferencia de las supuestas temperaturas frías a la temperatura ambiente usando una escala de puntaje. Para el pardeamiento de la cáscara, la escala será una escala relativa con un puntaje de 0 a 4, donde 0 = sin pardeamiento, 1 = hasta un 25 % del área superficial con pardeamiento, 2 = del 26 % al 50 % del

área superficial con pardeamiento, 3 = del 50 % al 75 % área superficial con pardeamiento y 4 = del 75 % al 100 % del área superficial con pardeamiento. El índice de pardeamiento de la cáscara se calculará como $\sum$ (puntaje de pardeamiento $\times$ proporción de fruta con cada puntaje).

Resultados

[069] Se espera que, como se observa en los duraznos, la aplicación de una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo mejore la calidad del banana en una cantidad mayor de lo esperado en comparación con la suma de mejoras de calidad provistas por la aplicación de cada uno de ellos por sí solo.

Ejemplo 8: Mejora en la calidad del tomate (profético)

Método

[070] Se cosecharán tomates y para el tratamiento se dividirán en grupos. Para el tratamiento, después de la cosecha a los tomates se les aplicarán agua, ácido (S)-abscísico ("S-ABA"), jasmonato de metilo o una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo mediante un baño de entre 1 y 2 minutos en las siguientes concentraciones: 1) solo agua; 2) S-ABA 0,3 milimolar ("mM"); 3) S-ABA 3 mM; 4) jasmonato de metilo 0,3 mM; 5) jasmonato de metilo 3 mM; 6) S-ABA 0,3 mM y jasmonato de metilo 0,3 mM; 7) S-ABA 0,3 mM y jasmonato de metilo 3 mM; 8) S-ABA 3 mM y jasmonato de metilo 0,3 mM o 9) S-ABA 3 mM y jasmonato de metilo 3 mM. Cada tratamiento incluirá Latron B-1956® al 0,025 % (que se puede obtener de J.R. Simplot Company) como coadyuvante. Luego de eso, todos los tomates se secarán durante 30 minutos y luego se almacenarán a temperaturas frías durante entre una y varias semanas. Después del almacenamiento en frío, todos los tomates se dejarán a la temperatura ambiente durante entre uno y varios días y luego se evaluarán para detectar los síntomas

de lesiones por frío.

[071] Se evaluarán los síntomas visuales de lesiones por frío, incluyendo el color de la cáscara, las picaduras de la cáscara y la incidencia de deterioro de cada tomate individual, antes y después de la transferencia de las supuestas temperaturas frías a la temperatura ambiente usando una escala de puntaje. Para el color de la piel, se evaluará el color mediante un espectrofotómetro. Para las picaduras de cáscara, la escala será una escala relativa con un puntaje de 0 a 3, donde 0 = sin lesiones por frío, 1 = hasta un 25 % del área superficial muestra lesiones por frío, 2 = del 26 % al 50 % del área superficial con lesiones por frío y 3 = del 50 % al 100 % con lesiones por frío. Para la incidencia de deterioro, la cantidad de tomates que muestren evidencia visual de deterioro se dividirá por la cantidad total de tomates para cada grupo de tratamiento.

Resultados

[072] Se espera que, como se observa en los duraznos, la aplicación de una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo mejore la calidad de los tomates en una cantidad mayor de lo esperado en comparación con la suma de mejoras de calidad provistas por la aplicación de cada uno de ellos por sí solo.

Ejemplo 8: Mejora de calidad de las frutas pomáceas (profética)

Método

[073] Se cosecharán manzanas y/o peras y para el tratamiento se dividirán en grupos. Para el tratamiento, después de la cosecha a las manzanas y/o peras se les aplicarán agua, ácido (S)-abscísico ("S-ABA"), jasmonato de metilo o una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo mediante un baño de entre 1 y 2 minutos en las siguientes concentraciones: 1) solo agua; 2) S-ABA 0,3 milimolar ("mM"); 3) S-ABA 3 mM; 4) jasmonato de metilo 0,3 mM; 5) jasmonato

de metilo 3 mM; 6) S-ABA 0,3 mM y jasmonato de metilo 0,3 mM; 7) S-ABA 0,3 mM y jasmonato de metilo 3 mM; 8) S-ABA 3 mM y jasmonato de metilo 0,3 mM o 9) S-ABA 3 mM y jasmonato de metilo 3 mM. Cada tratamiento incluirá Latron B-1956® al 0,025 % (que se puede obtener de J.R. Simplot Company) como coadyuvante. Posteriormente todas las manzanas y/o peras se secarán durante 30 minutos y luego se almacenarán a temperaturas frías durante entre una y varias semanas. Después del almacenamiento en frío, todas las manzanas y/o peras se dejarán a la temperatura ambiente durante entre uno y varios días y luego se evaluarán para detectar los síntomas de lesiones por frío.

[074] Se evaluarán los síntomas visuales de lesión por frío, incluyendo escaldaduras superficiales de cada manzana y/o pera individual, antes y después de la transferencia de las supuestas temperaturas frías a la temperatura ambiente usando una escala de puntaje. La escaldadura superficial es un trastorno fisiológico causado por lesiones por frío en las manzanas y peras. Se manifiesta como manchas marrones o negras en la piel de la fruta causadas por la oxidación de algunos compuestos que se encuentran en la piel de la fruta (es decir, alfa-farneseno, un terpeno volátil) que lesiona las membranas celulares y provoca la muerte celular en las capas celulares más externas del fruto. Para las lesiones por escaldaduras, se usará una escala relativa basada en el área superficial cubierta y con puntuación de 0 a 4, donde 0 = sin escaldaduras, 1 = hasta un 25 % de la superficie muestra escaldaduras, 2 = del 26 % al 50 % de la superficie muestra escaldaduras, 3 = del 51 % al 75 % de la superficie muestra escaldaduras y 4 = del 76 % al 100 % de la superficie muestra escaldaduras.

Resultados

[075] Se espera que, como se observa en los duraznos, la aplicación de

una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo mejore la calidad de las frutas pomáceas en una cantidad mayor de lo esperado en comparación con la suma de mejoras de calidad provistas por la aplicación de cada uno de ellos por sí solo.

Ejemplo 9: Mejora en la calidad de los cítricos (profético)

Método

[076] Se cosecharán cítricos y para el tratamiento se dividirán en grupos. Para el tratamiento, después de la cosecha a los cítricos se les aplicarán agua, ácido (S)-abscísico ("S-ABA"), jasmonato de metilo o una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo mediante un baño de entre 1 y 2 minutos en las siguientes concentraciones: 1) solo agua; 2) S-ABA 0,3 milimolar ("mM"); 3) S-ABA 3 mM; 4) jasmonato de metilo 0,3 mM; 5) jasmonato de metilo 3 mM; 6) S-ABA 0,3 mM y jasmonato de metilo 0,3 mM; 7) S-ABA 0,3 mM y jasmonato de metilo 3 mM; 8) S-ABA 3 mM y jasmonato de metilo 0,3 mM o 9) S-ABA 3 mM y jasmonato de metilo 3 mM. Cada tratamiento incluirá Latron B-1956® al 0,025 % (que se puede obtener de J.R. Simplot Company) como coadyuvante. Luego de eso, todos los cítricos se secarán durante 30 minutos y luego se almacenarán a temperaturas frías durante entre una y varias semanas. Después del almacenamiento en frío, todos los cítricos se dejarán a la temperatura ambiente durante entre uno y varios días y luego se evaluarán para detectar los síntomas de lesiones por frío.

[077] Los síntomas visuales de lesiones por frío, incluyendo a los defectos en la cáscara de la fruta, tales como picaduras y decoloración marrón, incluyendo a las áreas hundidas de color marrón como el cuero en la cáscara de cada fruta cítrica se evaluarán individualmente antes y después de la transferencia de las supuestas temperaturas frías a la temperatura ambiente usando una escala de puntaje. La escala de puntajes de defectos de la fruta será

una escala relativa basada en la gravedad del daño de 0 a 3, donde 0 = sin daño, 1 = daño bajo (por ejemplo, hasta un 10 % del área superficial dañada), 2 = daño moderado (por ejemplo, del 11 % al 50 % del área superficial dañada), 3 = daño severo (por ejemplo, más del 50 % del área superficial dañada).

Resultados

[078] Se espera que, como se observa en los duraznos, la aplicación de una mezcla de S-ABA y jasmonato de metilo mejore la calidad de los cítricos en una cantidad mayor de lo esperado en comparación con la suma de mejoras de calidad provistas por la aplicación de cada uno de ellos por sí solo