

TESIS DOCTORAL POR COMPENDIO DE PUBLICACIONES

Efecto del ambiente en la calidad de los frutos rojos desde un enfoque metabolómico

Sara Durán Soria



Directores: Prof. Dr. Sonia Osorio Algar / Dr. José G. Vallarino Castro

Programa de Doctorado de Biotecnología Avanzada
Universidad de Málaga

-2024-

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea "La Mayora" (UMA-CSIC).




CSIC
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

AUTORA: Sara Durán Soria

 <https://orcid.org/0000-0002-0520-3216>

EDITA: Publicaciones y Divulgación Científica. Universidad de Málaga



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional:

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode>

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de Málaga (RIUMA): riuma.uma.es





DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR

D./Dña SARA DURÁN SORIA

Estudiante del programa de doctorado BIOTECNOLOGÍA AVANZADA de la Universidad de Málaga, autor/a de la tesis, presentada para la obtención del título de doctor por la Universidad de Málaga, titulada: EFECTO DEL CAMBIO CLIMÁTICO EN LA CALIDAD DE LOS FRUTOS ROJOS DESDE UN ENFOQUE METABOLÓMICO.

Realizada bajo la tutorización de SONIA OSORIO ALGAR y dirección de SONIA OSORIO ALGAR Y JOSÉ GABRIEL VALLARINO CASTRO (si tuviera varios directores deberá hacer constar el nombre de todos)

DECLARO QUE:

La tesis presentada es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, conforme al ordenamiento jurídico vigente (Real Decreto Legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo.

Igualmente asumo, ante a la Universidad de Málaga y ante cualquier otra instancia, la responsabilidad que pudiera derivarse en caso de plagio de contenidos en la tesis presentada, conforme al ordenamiento jurídico vigente.

En Málaga, a 22 de ABRIL de 2024

Fdo.: SARA DURÁN SORIA Doctorando/a	Fdo.: SONIA OSORIO ALGAR Tutor/a
Fdo.: SONIA OSORIO ALGAR Y JOSÉ GABRIEL VALLARINO CASTRO	





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



Escuela de Doctorado

Director/es de tesis

UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



EFQM AENOR



Edificio Pabellón de Gobierno. Campus El Ejido.
29071
Tel.: 952 13 10 28 / 952 13 14 61 / 952 13 71 10
E-mail: doctorado@uma.es



CSIC
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Facultad de Ciencias

Departamento de Biología Molecular y Bioquímica

Dra. Sonia Osorio Algar, Catedrática del Departamento de Biología Molecular y Bioquímica de la Universidad de Málaga.

Dr. José Gabriel Vallarino Castro, investigador Ramón y Cajal del Departamento de Biología Molecular y Bioquímica de la Universidad de Málaga.

INFORMAN:

Que doña Sara Durán Soria ha realizado, bajo la dirección de ambos y supervisión de la Dra. Sonia Osorio Algar como tutora, el trabajo de investigación que se presenta en esta tesis doctoral por compendio de publicaciones, bajo el título “Efecto del cambio climático en la calidad de los frutos rojos desde un enfoque metabolómico”, para aspirar a la obtención del grado de doctor en biotecnología avanzada.

Y para que conste y tenga los efectos oportunos, en cumplimiento de la legislación vigente, se extiende el presente informe.

Fdo. Sonia Osorio Algar

Fdo. José Gabriel Vallarino Castro

En Málaga, a 23 de abril de 2024



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

“Equipado con sus cinco sentidos, el Hombre explora el universo que lo rodea y a sus aventuras las llama Ciencia”

Edwin Powell Hubble



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Agradecimientos

Quiero dar las gracias a todas aquellas personas que han conseguido que esta etapa, además de enriquecedora profesional y personalmente, haya sido una de las más bonitas e inolvidables de mi vida.

En primer lugar, a mi directora de tesis Sonia Osorio, por darme la oportunidad de empezar mi camino en la ciencia, sin la cual nada de esto hubiera sido posible, y por su orientación, apoyo y confianza durante estos años. Y a José Vallarino por su ayuda en la corrección y defensa de la tesis.

A Delphine, por su infinita paciencia, su apoyo, su positivismo y palabras de ánimo, su increíble y contagioso amor por la ciencia, por estar ahí siempre que la he necesitado, por el gran equipo que hacíamos trabajando juntas y, por supuesto, por su amistad. No hay palabras suficientes para agradecer todo lo que has hecho por mí, pero tengo claro que lo mejor de mi trabajo todos estos años ha sido compartirlo contigo.

A mi pequeña Lydia, que estuvo conmigo en mis primeros pasos, apoyándome y enseñándome con la paciencia y dulzura que la caracterizan, y por conseguir que un viernes a las 8 de la tarde prefiriese estar en el laboratorio trabajando con ella antes que en ningún otro lugar. Doy gracias por que hayas entrado en mi vida (y la hayas llenado de helados jeje), por nuestras charlas interminables, nuestra “telepatía” y por el apoyo y cariño que sigo recibiendo de ti.

A José Mora, por estar siempre dispuesto a echar una mano, su dedicación en todos los experimentos que hace, sus preguntas de “¿tú qué harías?” cuando ya conoce la respuesta (pero no le gusta), y por ser esa persona en la que sabes que puedes confiar. Me acordaré de ti siempre que coja puntas de forma desordenada.

A Helena, por su frescura, su simpatía, sus dotes de “minijefa”, su gran trabajo como reportera oficial del IHSM y esa capacidad de sacarte una sonrisa con un comentario, un baile o sólo con hacer acto de presencia.

A Kike, por su sentido del humor inteligente y espontáneo que consigue hacerte reír incluso en los malos momentos, por su gran corazón, por su ayuda con la bioinformática y porque siempre le apetezca “pensar” conmigo.

A Marina, Inma y Patri, que han sido un gran aporte para el grupo tanto personal como profesionalmente. Da gusto trabajar con compañeras así de simpáticas y trabajadoras.

A los grandes investigadores y su constante esfuerzo para que todo funcione lo mejor posible: A Karen, desde mi humilde punto de vista, una de las mejores científicas que he conocido, por sus consejos, su sinceridad, su lealtad y su amistad. A Vicky Sánchez, Vero González y Noemí, por su simpatía, su humildad y ofrecermme ayuda y consejos cuando los he necesitado. A Miguel Ángel Botella, David Posé, Araceli, Carmen Beuzón, Eduardo, Iri, Javier Pozueta y Javier Ruíz; por su buen rollo, su ayuda y sus buenos consejos en los lab-meeting.

Al resto de mi grupo de beer-meeting, por el ambiente tan bonito y tolerante que creabais todas dentro y fuera del laboratorio: A Blanca, por ese sentido del humor tan único que me encanta, ese corazón tan grande (¡nunca dejes de salvar bichitos!), y su increíble capacidad de decir algo “oscuro” y que suene dulce. A Bego, por encargarse siempre de organizar, sus útiles consejos de “marujeo” ¡y sus tartas!. A Carmen, por sus consejos, su confidencialidad y su ayuda en tantos temas científicos y administrativos.

A Adela, por su dedicación, su ternura, su infinita paciencia y sus consejos que me han salvado en varias ocasiones. Aunque pienses que nadie es imprescindible, tú sí lo eres.

A todos mis compañeros de laboratorio: Flor, María, Amalia, Raquel Jiménez, Vero, Monti, Marta Alcalá, Carlos Sánchez, Caro, Fran Benitez, Fran Percio, Bea Romero, Vitor, Jorge, Ángel, Gemma, Pablo Mesa, Vicky Motos, José Duarte, Selene, Jesús, Marta Carrera, Lidia López, Nieves, Dani, Carla, Tabata, Ana Luna, Pablo Morales, Laura Domínguez, Raquel Pagano, Alberto, Miriam, Bea Villar, Pepe Moya, Laura Mancera, Marcos, Javi Rueda, Rafa Morcillo, José Rufián, Carlos García y nuestros chófers Cristian, Valeriano y Manuel; Por su gran compañerismo, prestarme ayuda, consejos o simplemente apoyo moral siempre que lo he necesitado, su tolerancia y respeto hacia todo el mundo, las risas a la hora de comer y especialmente ese ambiente tranquilo y amigable que se respiraba en el edificio gracias a vosotros y que hace que apetezca ir a trabajar cada día. No habría sido lo mismo sin todos vosotros. Y a los que hace tiempo que se fueron, pero estaban cuando empezó esta “aventura”, Meco, Álvaro, Mario, Pepe y Jessi, por todas las razones ya mencionadas y por acogermme desde el principio como una más y hacerme sentir cómoda e integrada desde el primer día.

A mis compis de piso, Laura, Lauri y Silvi, que también han sido una parte importante de esta experiencia, por hacer que sintiera ese piso como mi hogar, por escucharme, aconsejarme, por las pelis de chicas, nuestras largas, largas, laaaargas conversaciones cada noche que tanto echo de menos y, sobre todo, por su amistad.

A mis padres, por su ayuda y su apoyo incondicional en cada decisión que he tomado en mi vida y hacerme sentir que estaréis ahí siempre. Todo lo que soy y todo lo que he conseguido os lo debo a vosotros. Os quiero mucho.

A mi hermano, posiblemente el mejor chef del mundo, por sus tapers de comida durante todos estos años que me traían un pedacito de mi hogar cuando estaba fuera.

A Rafa, el amor de mi vida, por su paciencia y apoyo todos estos años, por hacerme sentir que puedo con todo, por su capacidad para tranquilizarme y hacerme reír cuando más lo necesito, y por aceptar el tiempo que hemos vivido separados debido a la tesis y tantas horas sólo con el bebé los últimos años.

A mi niño, Arturo, que ha hecho que esta etapa sea mucho más intensa y preciosa de lo que yo habría imaginado. Por darme una perspectiva diferente de todo, por haber tenido que soportar tantas horas alejados, por esa risa que hace que todo merezca la pena y que lo malo desaparezca en un instante y por lo feliz que me haces cada día. Eres, sin duda, lo mejor que me ha pasado en la vida.

Esta tesis ha sido realizada en el Departamento de Biología Molecular y Bioquímica de la Universidad de Málaga (Edificio I+D+i) y en el Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora” (UMA-CSIC). Y ha sido financiada por el fondo Social Europeo (contratos garantía juvenil) y el plan propio de la Universidad de Málaga.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

ÍNDICE

Introducción general	1
1. Importancia económica y social de los frutos rojos	3
1.1. Género <i>Ribes</i>	4
1.2. Género <i>Rubus</i>	5
2. Caracteres asociados a calidad de fruto	7
2.1. Tamaño y textura del fruto.....	8
2.2. Sabor y aroma del fruto	9
2.3. Color y capacidad antioxidante del fruto	10
2.4. Vitaminas y otros parámetros de calidad	15
3. Factores implicados en la maduración del fruto	16
3.1. Factores internos responsables del proceso de maduración	16
3.2. Influencia de factores externos en la calidad del fruto	21
4. Análisis metabolómicos	23
4.1. Herramientas metabolómicas	24
4.2. Empleo de multi -ómicas en programas de mejora de fruto.....	30
Objetivos	35
Capítulo 1: Sugar signaling during fruit ripening	39
Capítulo 2: Exploring genotype-by-environment interactions of Chemical composition of raspberry by using a metabolomics approach	43
Capítulo 3: Dissecting the impact of environment, season and genotype on blackcurrant fruit quality traits.....	47
Conclusiones	51
Bibliografía de la introducción	55



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

INTRODUCCIÓN GENERAL



INTRODUCCIÓN GENERAL

1. Importancia económica y social de los frutos rojos

Los frutos rojos o frutos del bosque son un grupo no filogenético de frutos que se caracterizan por presentar dicho color rojo, asociado a la presencia de antocianinas. Estos compuestos, además, son importantes puesto que confieren propiedades beneficiosas para la salud (Basu et al., 2018; Golovinskaia & Wang, 2021; Manganaris et al., 2014; Yousefi et al., 2021), haciendo que sean frutos muy apreciados por el consumidor. Dentro de este grupo se incluyen, entre otros, los frutos de fresa, frambuesa, mora, arándano, grosella, cereza, madroño y endrina/arañón. En esta tesis, nos vamos a centrar sobre todo en el fruto de frambuesa y grosella.

La producción mundial tanto de frambuesa como de grosella se ha incrementado notablemente en las últimas décadas, especialmente en el caso de la frambuesa, que ha pasado de una producción de 130K Tm a principio de los años 60s hasta casi 900K Tm producidas en 2021, siendo especialmente importante en la última década donde la producción mundial se ha incrementado cerca de un 50% (FAOSTAT - <https://www.fao.org>; acceso enero 2023) (Fig. 1). En el caso de la grosella, la producción mundial ha pasado de 300K Tm en el año 1961 hasta más de 700K Tm en 2021 (FAOSTAT - <https://www.fao.org>; acceso enero 2023) (Fig. 1).

Actualmente, España es uno de los principales productores a nivel mundial de fruto de frambuesa, ocupando el sexto puesto tras Rusia, México, Serbia, Estados Unidos y Polonia, con una contribución de más de un 5% en la producción mundial. La producción europea del fruto de grosella, centrada mayoritariamente en los países del norte de Europa y en particular en Polonia, alcanza más de 170K Tm representando un 28% de la producción mundial (FAOSTAT - <https://www.fao.org>; acceso enero 2023).

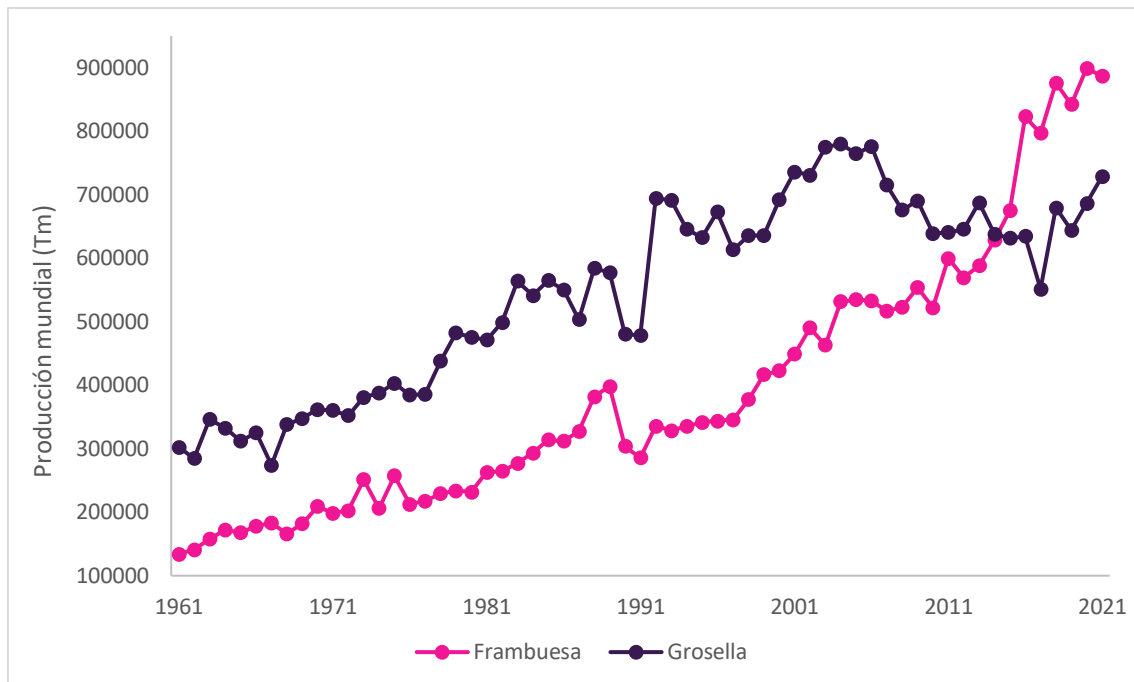


Figura 1: Producción mundial en toneladas de frutos de frambuesa y grosella de las últimas seis décadas (de 1961 a 2021) según FAOSTAT (acceso enero 2023).

1.1. El género *Ribes*

La familia *Grossulariaceae* presenta un único género, el género *Ribes*, que está formado por unas 633 especies (<https://www.worldfloraonline.org>) e incluye las comúnmente llamadas grosellas. El género *Ribes* lo forman arbustos perennes caducifolios, generalmente inermes, que producen frutos en forma de baya de sabor agrio de gran valor comercial, y que se distribuyen por zonas templadas y frías del centro y norte de Asia y de Europa (Milivojevic et al., 2012; Sun et al., 2021a). Además de su valor en agricultura, cabe mencionar sus aplicaciones en farmacología, ya que se han reportado propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antihipertensivas en extractos de frutos, flores, hojas, raíces, tallos y corteza (Sun et al., 2021a).

La grosella negra (*Ribes nigrum*) es una de las especies económicamente más importantes, siendo Polonia su principal exportador cubriendo el 80-90% de la producción mundial (Cortez & Gonzalez de Mejia, 2019). Sus frutos, con un característico sabor amargo y astringente, se suelen consumir como fruto fresco o procesado como licor, mermelada, jalea o como suplementos nutricionales (Milivojevic et al., 2012).

Respecto a su morfología podemos decir que es un arbusto espinoso de aproximadamente 1.5 metros de altura, con hojas simples de tres a cinco lóbulos con borde aserrado (Fig. 2A) y glándulas amarillas en la parte inferior. Sus frutos son negros, en forma de baya y pulposos con muchas semillas (Fig. 2B). Las flores aparecen de mayo a junio en forma de inflorescencia (racimos de 10 a 20 flores) que nacen de la axila de las hojas, de color rojizo en el exterior y verde en el interior y con el cáliz más largo que los pétalos (Fig. 2A) (NatureGate - <https://luontoportti.com>).



Figura 2: Hojas, flores (A) y frutos (B) de *Ribes nigrum*. Fotografías obtenidas de pixabay.com

1.2 El género *Rubus*

La frambuesa del género *Rubus* pertenece a la familia *Rosaceae* que cuenta con aproximadamente 100 géneros y 3000 especies, entre las que se incluyen especies de gran importancia económica como la fresa (*Fragaria x ananassa*), la manzana (*Malus domestica*), el melocotón (*Prunus pérsica*), la cereza (*Prunus avium*) y la rosa (*Rosa ssp.*).

El género *Rubus* es uno de los más grandes de la familia *Rosaceae* conteniendo más de 700 especies de arbustos o herbáceas perennes divididas, éstas, en 12 subgéneros, los cuales se distribuyen principalmente por zonas templadas del hemisferio Norte (Meng et al., 2022). En Europa se encuentran unas 100 especies que forman parte de cinco subgéneros: *Chamaemorus*, *Cyclactis*,

Anoplobatus, *Idaeobatus* y *Rubus* (Patel et al., 2004). Esta gran complejidad y diversidad genética hace que este género, además de su gran importancia para la agricultura, sea muy atractivo para estudios científicos.

Su fruto carnoso es una polidrupa y, además de por su apariencia succulenta y su agradable sabor, es muy apreciado por su alto valor nutricional, el cual está asociado a sus altos niveles de metabolitos polifenoles (Meng et al., 2022). Además, se ha visto que su consumo frecuente es beneficioso para la salud, en particular, se conoce por su importante papel en el tratamiento de hiperglucemia y dislipidemia (Piña-Contreras et al., 2022), así como en el tratamiento de heridas, inflamación y quemaduras (Meng et al., 2022; Patel et al., 2004).

En la actualidad, las especies de frambuesa más cultivadas son: *Rubus idaeus* (frambuesa roja), *Rubus strigosus* (frambuesa silvestre), *Rubus occidentalis* (frambuesa negra) y *Rubus neglectus* (frambuesa púrpura) (infoagro.com).

La frambuesa roja (*Rubus idaeus*), nativa de Europa y el norte de Asia, es una de las especies más conocidas y representativas del género *Rubus*, además de ser la más importante económicamente por su alta demanda en el mercado a nivel mundial. La planta de frambuesa se puede definir como un arbusto de tipo enredadera que alcanza una altura de entre uno y dos metros y con unas estructuras denominadas coronas en la parte inferior. De estas coronas nacen las raíces, ramas o tallos y estolones subterráneos con los que la planta puede reproducirse de forma asexual. Además, presenta hojas compuestas de tres a cinco folíolos con borde aserrado, flores pequeñas y blancas (floración de junio a julio) formadas por cinco pétalos caducos poco visibles, cinco sépalos largos, numerosos estambres libres y varios ovarios pero un solo óvulo fértil. Sus frutos rojos destacan por tener sabor dulce pero ácido y forma esférica presentando agregados de drupa de entre 1 a 1.4 cm (Morales, 2009; Tao et al., 2023; infoagro.com).

En la figura 3 se muestra un diagrama que recoge las principales estructuras morfológicas de la planta. *Rubus idaeus*.

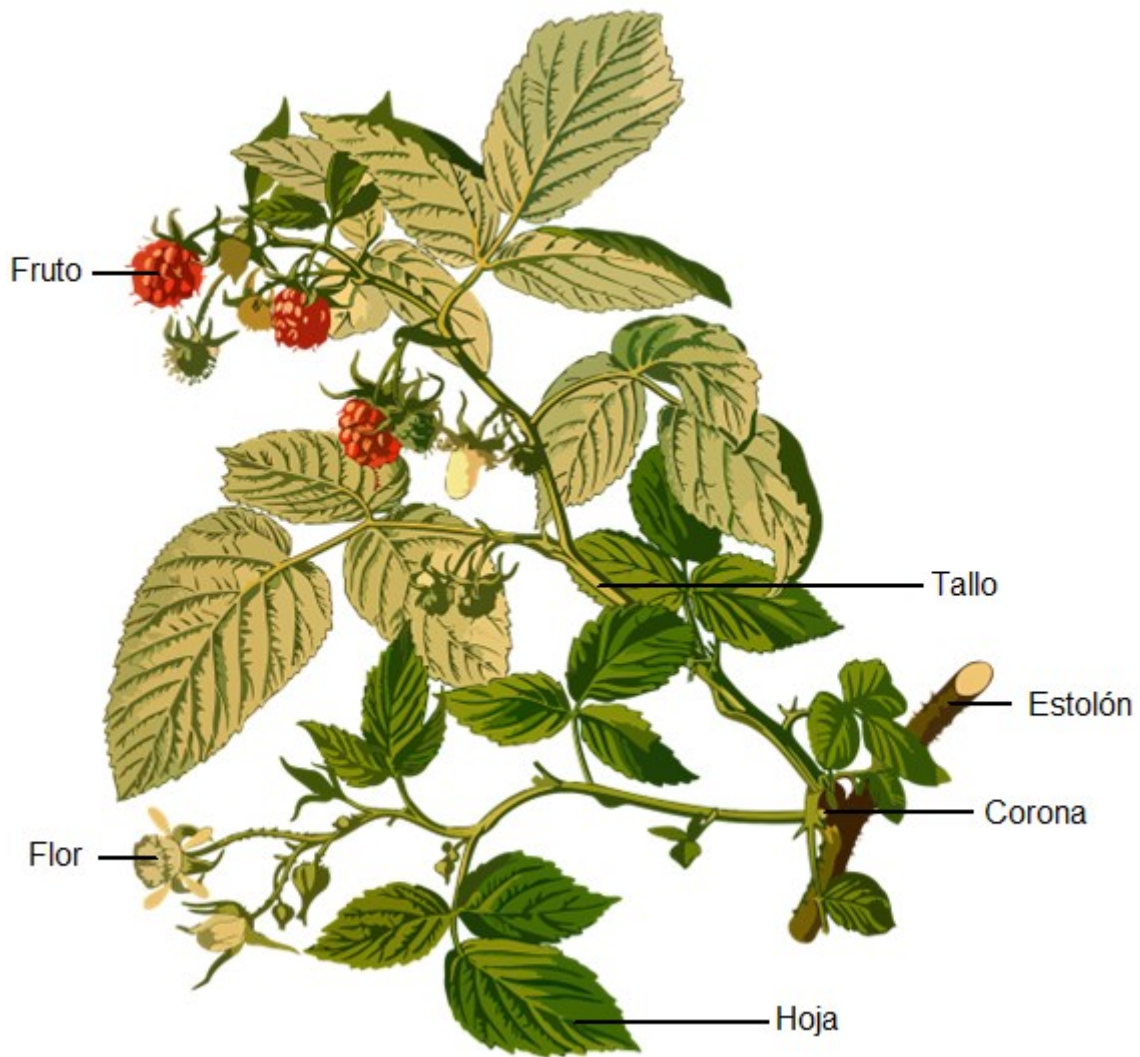


Figura 3: Esquema morfológico de la planta *Rubus Idaeus*. Imagen adaptada de Pixabay.com

2. Caracteres asociados a calidad de fruto

Los principales caracteres asociados a la calidad del fruto son los relacionados con su aspecto como firmeza, tamaño y color, además del aroma, sabor y valor nutricional. Tras la fecundación, comienza el desarrollo de la semilla y, al mismo tiempo, el pericarpio (ovario fecundado) sufre modificaciones que culminan con la formación del fruto maduro. La maduración del fruto es un proceso complejo que implica aumento del tamaño y disminución de la firmeza, así como cambios en la concentración de determinados metabolitos, tanto primarios como secundarios que son los responsables del color, sabor y aroma del fruto maduro.

2.1. Tamaño y textura del fruto

Tanto el tamaño como el peso final y la firmeza son características importantes que definen, en gran parte, su calidad desde un punto de vista comercial puesto que son características importantes para el consumidor. Además, en fresa se ha descrito que tanto el tamaño del fruto como su firmeza y su peso pueden afectar a otras características de calidad como puede ser el sabor o la composición nutricional (Ali & Serçe, 2022). De ahí que estas características sean uno de los objetivos actuales de los programas de mejora.

El aumento del tamaño del fruto, aunque está influenciado tanto por la genética como por el ambiente, se debe básicamente a procesos de división y elongación celular que tienen lugar en diferentes tipos celulares, así como en distintos momentos del desarrollo (Mauxion et al., 2021).

La firmeza del fruto es otra característica de interés en los programas de mejora, puesto que afecta no sólo a las características organolépticas sino también a su vida post-cosecha y por tanto a la aceptación por parte del consumidor. El crecimiento del fruto contribuye, en cierta forma, a la pérdida de firmeza que va sucediendo de forma simultánea durante la maduración. En el caso de la frambuesa, por ejemplo, el ablandamiento progresivo del fruto durante la maduración está asociado a su propia expansión, provocando la distensión de las células de la hipodermis y epidermis del mesocarpio. A su vez, se produce la separación de las drupas del receptáculo, la ruptura de la pared celular de las células del mesocarpio y la pérdida de turgencia de la piel (Sexton et al., 1997). En general, la pérdida de firmeza y cambios en la textura de los frutos vienen determinados por la acción conjunta de varias enzimas que actúan sobre la pared celular, principalmente pectinasas, actuando en la pectina, así como otras enzimas que modifican la celulosa y hemicelulosa (Li et al., 2021b). Se ha observado que los genes *β -galactosidasa* y *expansina* se activan durante los primeros estadios de maduración del fruto controlando la actividad de otras enzimas hidrolasas relacionadas con la maduración, como poligalacturonasas, pectin-metil-esterasas, pectato-liasas, endo-transglucosilasas de xiloglucano y endo-1,4- β -glucanasas (Simpson et al., 2017).

2.2. Sabor y aroma del fruto

El sabor y el aroma contribuyen en gran medida a la percepción organoléptica general del fruto, y son factores muy importantes para determinar su calidad, siendo los principales responsables de su aceptación por parte de los consumidores (Bhat et al., 2015; Fan et al., 2021; Goldenberg et al. 2018; Bejaei et al., 2020).

El sabor característico del fruto al final de la maduración se debe principalmente a la cantidad y tipo de azúcares, así como el ratio entre los niveles de azúcares y ácidos (Ritala et al., 2022). El dulzor que presenta el fruto maduro se debe al aumento en su contenido en azúcares, principalmente glucosa, fructosa y sacarosa (Crespo et al., 2010; Mennella et al., 2017; Mikulic-Petkovsek et al., 2012; Woznicki et al., 2017). A lo largo de la maduración se produce un incremento en el flujo de la gluconeogénesis y de la degradación de almidón, así como de otros polisacáridos. También se produce una disminución del contenido de ácidos, y por lo tanto de la acidez, así como una degradación de flavonoides, taninos y otros compuestos que producen amargor (Prasanna et al., 2007). Estos procesos, en el caso de frutos no climatéricos como la mayoría de los frutos rojos, tiene lugar de forma muy rápida en los estadios finales de la maduración (Samkumar et al., 2022). La acidez del fruto también juega un papel muy importante en el sabor, y depende principalmente del ratio entre la acumulación y degradación de ácidos orgánicos, siendo el ácido cítrico y el ácido málico los que están presentes en mayor cantidad en la mayoría de los frutos (Füzfai et al., 2004; Mayuoni-Kirshinbaum & Porat, 2014; Zheng et al., 2021b). Los ácidos orgánicos se acumulan sobre todo en los primeros estadios de maduración, y a medida que avanza la maduración, éstos se van degradando. Dependiendo del fruto, esta degradación es más o menos severa (Zheng et al., 2021b).

El aroma del fruto, que también influye en su sabor, se debe a la combinación de una gran variedad de compuestos volátiles, principalmente ésteres, aldehídos, alcoholes, cetonas, lactonas, terpenoides y apocarotenoides, cuya identidad y concentración es específica no sólo a nivel de especie, sino también de cada variedad (El Hadi et al., 2013).

Los compuestos volátiles son compuestos lipofílicos de bajo peso molecular (menor de 300 Dalton) y volatilidad alta a temperatura ambiente. En el fruto de frambuesa se han identificado cerca de 300 volátiles (Aprea et al., 2015) y más de 150 en el caso de grosella negra (Dvaranauskaite et al., 2008). Existe una gran diversidad de compuestos volátiles, lo cual se debe (I) a que se sintetizan a partir de diferentes rutas metabólicas, pudiendo así partir de lípidos, aminoácidos (leucina, isoleucina y fenilalanina), terpenoides y carotenoides (Goff & Klee, 2006); (II) éstos, adicionalmente, sufren distintos tipos de modificaciones, como metilaciones, acilaciones, hidroxilaciones, oxidaciones, reducciones y/o ciclaciones (El Hadi et al., 2013). A pesar de la gran variabilidad de compuestos volátiles que posee el fruto, se ha descrito que sólo una pequeña parte de éstos (unas pocas decenas) tienen un fuerte impacto en el aroma (El Hadi et al., 2013). Por ejemplo, se ha descrito que los ésteres son los principales responsables del aroma dulce y floral en fruto de fresa (Pott et al., 2018). En frambuesa, los volátiles 4-(4-hidroxifenil)butan-2-ona (también denominada cetona de frambuesa), α -ionona, β -ionona, dihidro- β -ionona, hexanal, (*Z*)-3-hexenal, (*E*)-2-hexenal, eucaliptol, (*Z*)-3-hexen-1-ol, 1-octen-3-ol, linalool, alcohol bencílico, teaspirano, damascenona y naftaleno se han identificado como los principales compuestos implicados en el aroma del fruto, siendo los tres primeros los que parecen tener mayor importancia (Aprea et al., 2015; Zhang et al., 2021a). En el caso del fruto de grosella negra, los compuestos volátiles que más influyen en el aroma a fruto fresco son metil-butanotato, etil-butanoato, etil-hexanoato, cineol, linalool, 4-terpineol, 2-metoxi-3-isopropilpirazina, β -damascenona, 1-octen-3-ona y, especialmente, 4-methoxy-2-methyl-2-butanethiol (Jung et al., 2016; Varming et al., 2004).

2.3. Color y capacidad antioxidante del fruto

Otro de los caracteres importantes en la calidad del fruto relacionado tanto con su aspecto como con su valor nutricional es su color. Tanto el color rojo intenso de la frambuesa, como el color azul oscuro de la grosella vienen determinados por la acumulación de determinados metabolitos secundarios denominados antocianinas, localizados mayoritariamente en la piel (García-Conesa et al., 2018; Ponder et al., 2021).

Se denominan metabolitos secundarios a aquellos compuestos sintetizados en la propia planta que, a diferencia de los metabolitos primarios, no están implicados directamente en su supervivencia, crecimiento y reproducción, sino que participan en su interacción con el ambiente (Yang et al., 2018). De este modo, una concentración deficitaria de estos compuestos no provoca la muerte inmediata de la planta, pero sí disminuye la probabilidad de supervivencia a largo plazo, ya que son importantes en la respuesta a diversos factores de estrés, tanto bióticos como abióticos (Yang et al., 2018; Zaynab et al., 2018).

Los metabolitos secundarios son un grupo muy heterogéneo pero, a grandes rasgos, se pueden clasificar en 4 grupos: (I) compuestos fenólicos, que incluye principalmente a flavonoides (antocianinas, flavonoles, flavanoles, flavanonas, flavonas y taninos condensados), ácidos fenólicos, cumarinas, lignanos y taninos; (II) terpenos, entre los que encontramos carotenoides, esteroides y sus derivados; (III) alcaloides o compuestos nitrogenados; y (IV) glicósidos, donde también se incluyen glucosinolatos y saponinas (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Los frutos rojos son especialmente ricos en compuestos polifenólicos, destacando las antocianinas que, como ya se ha mencionado, son las responsables del color característico que presentan estos frutos además de ser importantes por su valor nutraceútico (Golovinskaia & Wang, 2021). Las antocianinas son un grupo de compuestos del grupo de flavonoides que se encuentran en su mayoría glicosilados. Estos compuestos se acumulan en las vacuolas y son los responsables de los tonos azules, morados y rojos, siendo cianidina, delphinidina, pelargonidina, peonidina, petunidina y malvidina las mayoritarias en frutos rojos (Mattioli et al., 2020). Por ejemplo, pelargonidina-3-glucósido es la antocianina mayoritaria en fruto de fresa (Giampieri et al., 2012), delphinidina-3-rutinósido en fruto de grosella negra (Šimerdová et al., 2021), cianidina-3-rutinosido en fruto de cereza (Cao et al., 2015), derivados glicosilados de cianidina en fruto de mora (Kaume et al., 2012) y derivados glicosilados de cianidina y pelargonidina en fruto de frambuesa (Beekwilder et al., 2005a).

La variabilidad de tonos de color que otorgan las antocianinas a los frutos se debe a las diferentes modificaciones (hidroxilación, metilación, glicosilación y acilación) que pueden presentar. Por ejemplo, a mayor número de grupos hidroxilo en la molécula de antocianina el color es más azulado y, por el contrario, mayor cantidad de grupos metilo cambian la tonalidad a rojizo (Alappat & Alappat, 2020). Las antocianinas forman complejos no covalentes con otros flavonoides, como flavonas y flavonoles, que pueden estabilizar el color, siendo este complejo más estable cuando la antocianina se encuentra acilada. La acilación ayuda también a que las antocianinas no sean degradadas por altas temperaturas o largas exposiciones a la luz (Ponder et al., 2021). Esta gran variabilidad de tonos de color hace que las antocianinas se hayan empleado como colorantes alimentarios desde hace más de tres décadas, siendo una alternativa más saludable a los colorantes artificiales (Cortez et al., 2017). Hay que destacar, además, que se emplean como aditivos en confitería, cosméticos y textiles (Kapoor et al., 2022). Además del color, las antocianinas confieren a los frutos multitud de propiedades nutraceuticas, como gran poder antioxidante y antiinflamatorio, actividad antimicrobiana, y su capacidad para contrarrestar el inicio y la progresión de enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares, cáncer y diabetes (Alappat & Alappat, 2020; Mattioli et al., 2020).

Otros compuestos importantes por tener una alta actividad antioxidante y por sus propiedades nutraceuticas son los taninos. Estos compuestos pueden dividirse en taninos condensados y taninos hidrolizados. Los taninos condensados, también denominados proantocianinas, tienen principalmente un papel defensivo frente a depredadores y patógenos. Recientemente, se les ha atribuido un gran potencial terapéutico, ya que han demostrado tener capacidad antimicrobiana, antioxidante, anticáncer, neuroprotectora, cardioprotectora, inmunomoduladora, antidiabética e incluso un papel importante en la prevención de la obesidad (Rauf et al., 2019). Dentro de los taninos hidrolizados encontramos el enorme y diverso grupo de los elagitaninos. Este grupo de metabolitos es muy diverso habiéndose descrito en la actualidad más de un millar (Yamada et al., 2018). Son, además, conocidos por tener propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimutagénicas (García-Conesa et al., 2018). A estas propiedades se les atribuye un papel importante en la reducción de peso, colesterol LDL, triglicéridos

y glucosa (García-Conesa et al., 2018). Los elagitaninos son especialmente abundantes en fruto de frambuesa, de hecho, se les atribuye más de la mitad de la capacidad antioxidante de este fruto (Beekwilder et al., 2005a). Uno de los elagitaninos más conocido y estudiado es el ácido elágico, el cual se asocia con la prevención o reducción del efecto de enfermedades crónicas, como cáncer, diabetes y enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, además de poseer propiedades antiateroscleróticas, antiestrogénicas, antinociceptivas, antifibróticas, antialérgicas, antimicrobiales, antivirales, antiparasitarias, osteogénicas, cicatrizantes y de protección frente a xenobióticos orgánicos y toxinas (Sharifi-Rad et al., 2022).

Tanto antocianinas como taninos están presentes en el fruto maduro de grosella y frambuesa, aunque la concentración de éstos sigue patrones diferentes a lo largo de la maduración. Las antocianinas, con funciones principalmente de protección frente a la radiación y atracción de animales para el consumo de la fruta y dispersión de semillas, van acumulándose a lo largo de la maduración, alcanzando su máximo en el fruto maduro (Baldi et al., 2018; Beekwilder et al., 2005b; Jarret et al., 2018). Por el contrario, los taninos, cuya función es evitar el consumo de la fruta antes de que la semilla esté madura y servir de precursores para otros metabolitos secundarios, están presentes en mayor cantidad en los primeros estadios de maduración y tienden a disminuir a lo largo de la maduración (Baldi et al., 2018; Beekwilder et al., 2005b; Jarret et al., 2018).

En la figura 4 se muestra un esquema de la relación entre metabolismo primario y secundario, así como las rutas metabólicas de biosíntesis de los principales grupos de polifenoles

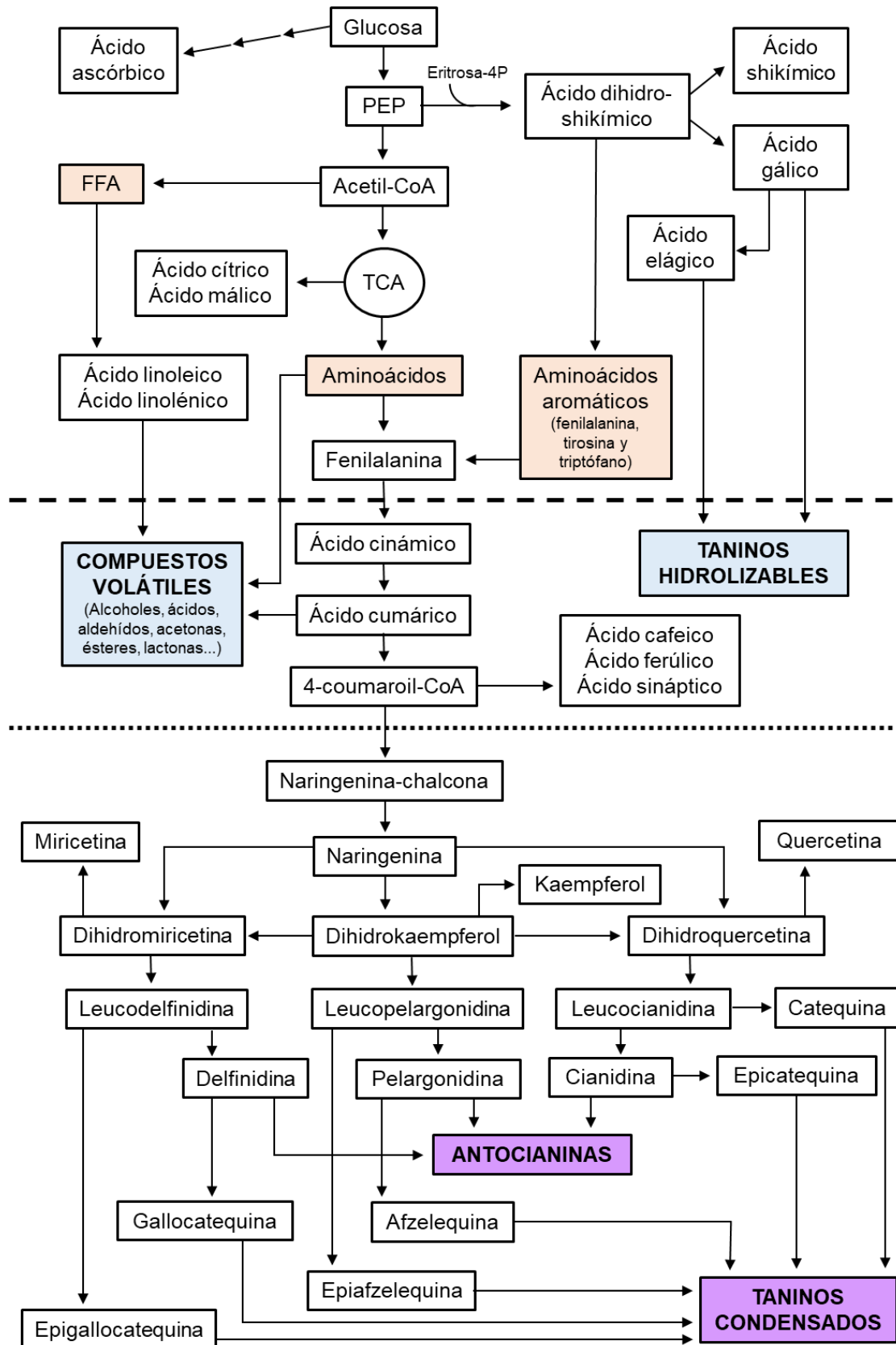


Figura 4: Esquema general de los principales metabolitos relevantes en la calidad del fruto. La línea discontinua marca la separación entre metabolismo primario y secundario, así como el comienzo de la ruta de los fenilpropanoides, y la línea de puntos marca el inicio de la ruta de los flavonoides. Las flechas indican uno o varios pasos metabólicos. PEP: Fosfoenolpiruvato, FFA: ácidos grasos, CoA: Acetil coenzima A, TCA: ciclo de los ácidos tricarbóxicos.

2.4. Vitaminas y otros parámetros de calidad

Los frutos rojos se caracterizan también por ser una gran fuente de vitaminas y minerales. Entre los cuales podemos encontrar vitaminas A (retinol), C (ácido ascórbico), E (tocoferol), K, B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B3 (niacina), B6 (piridoxina), B9 (ácido fólico) y los minerales de hierro (Fe), calcio (Ca), magnesio (Mg), potasio (K), sodio (Na), zinc (Zn), fósforo (P), cobre (Cu) y selenio (Se), destacando, además, el alto contenido en fibra (Golovinskaia & Wang, 2021).

Por supuesto, no están presentes en las mismas proporciones en todos los frutos rojos, la grosella negra destaca por su mayor cantidad en calcio, hierro, potasio, fósforo, selenio y vitaminas B1, B2 y C. Por su parte, la frambuesa presenta altos niveles de vitaminas B3, B6, C además de magnesio (Golovinskaia & Wang, 2021). Los frutos de grosella negra y frambuesa son especialmente ricos en fibra alimentaria en comparación con otros frutos rojos (Akimov et al., 2020; Golovinskaia & Wang, 2021).

Cabe destacar la vitamina C, un ácido orgánico que está presente en altas cantidades en ambos frutos, especialmente en grosella negra (Woznicki et al., 2017), habiendo demostrado, además, ser un potente antioxidante, pudiendo donar dos electrones de forma secuencial para neutralizar radicales libres (Padayatty et al., 2003). Debido a esto, el ácido ascórbico ha demostrado tener también un amplio efecto sobre las propiedades funcionales de los polisacáridos en la propia planta, previniendo su degradación por radiación, cambiando la morfología y las propiedades funcionales del almidón, y mejorando ciertas propiedades de estructuras de recubrimiento (Zou et al., 2020). Asimismo, el ácido ascórbico tiene un gran valor nutricional, además de por su mencionada capacidad antioxidante, desempeña también, un importante papel en la prevención del cáncer, el envejecimiento, la regulación de procesos inmunológicos y genéticos y la reducción de la aterosclerosis (Arrigoni & De Tullio, 2002; Skrovankova et al., 2015; Zou et al., 2020).

3. Factores implicados en la maduración del fruto

La maduración del fruto es un proceso complejo que implica la acción conjunta de hormonas y factores de transcripción (TF), además de la participación de otros metabolitos como los azúcares, entre otros. Cada fruto tiene unas características propias, de hecho, pueden provenir de distintas partes de la flor, por ejemplo, la parte carnosa del fruto de fresa proviene del receptáculo floral y serían los aquenios, provenientes del ovario fecundado, los verdaderos frutos. Sin embargo, en todos los casos el desarrollo y la maduración de los frutos están desencadenados por la acción de hormonas, sufriendo cambios de la expresión genética similares. Generalmente, las hormonas actúan modulando la expresión de factores de transcripción implicados en la maduración. A su vez, estos factores de transcripción pueden estar también involucrados en la propia síntesis de hormonas, además de estar regulados por estímulos ambientales o del propio desarrollo, es decir, señales hormonales, genéticas, ambientales y de desarrollo trabajan de forma coordinada para el desarrollo y la maduración del fruto (Li et al., 2021b).

3.1. Factores internos responsables del proceso de maduración

Los frutos se pueden clasificar como climatéricos o no climatéricos, atendiendo a su respiración y al papel que desempeña el etileno en su maduración. Los frutos climatéricos, que tienen como especie modelo el tomate, tienen un pico de producción de CO₂ y etileno al comienzo de la maduración del fruto. Es importante destacar que este tipo de frutos siguen madurando una vez recolectados. Algunos ejemplos de frutos climatéricos son manzana, pera, kiwi, plátano, mango, aguacate, arándano, madroño, higo, melón, ciruela, melocotón, etc. Por su parte, los frutos no climatéricos, cuya especie modelo es la fresa, no experimentan ese pico en la producción de etileno ni CO₂, y es el ácido abscísico (ABA), no el etileno, quien tiene un papel principal en la maduración. Además de la fresa, otros ejemplos de frutos no climatéricos son uva, cereza, frambuesa, grosella, mora, endrina, piña, naranja, limón, granada, etc. Estos frutos no tienen la capacidad de seguir madurando una vez separados de la planta, por lo que es importante para la calidad del fruto que sean recolectados en su punto justo de maduración.

El etileno controla a nivel fisiológico, bioquímico y molecular la mayoría de los procesos de la maduración (color, firmeza, sabor y aroma) de frutos climatéricos. Esta gran diversidad de respuestas a etileno podría atribuirse a los factores de transcripción *ERF* (*Ethylene Response Factors*, por sus siglas en inglés), una de las familias de factores de transcripción más grandes descritas en plantas (Liu et al., 2015). Por ejemplo, en cuanto a la textura del fruto, se ha observado que en melocotón los promotores de genes implicados en la pared celular tienen sitios de unión a ERF (Wang et al., 2017). Es decir, la producción masiva y autoestimulada de etileno que tiene lugar al comienzo de la maduración en frutos climatéricos desencadena, a través de sus receptores ETR (*Ethylene Receptor*, por sus siglas en inglés), una cascada de transducción de señales que regulan la expresión genética de muchos de los genes implicados en diferentes procesos de la maduración (Bapat et al., 2010).

Otros factores de transcripción importantes implicados en la maduración del fruto en tomate son *TAG1* (*TOMATO AGAMOUS 1*), *AP2a* (*APETALA 2a*), *FUL1* (*FRUITFULL 1*), *FUL2* (*FRUITFULL 2*), *HB1* (*HEMOGLOBIN 1*), *MADS1* (perteneciente a la familia de FT *MADS-box*) y *MYB70* (perteneciente a la familia de FT *MYB*) (Cao et al., 2020). En la regulación de la maduración, y afectando por tanto a la calidad del fruto de tomate, destacan especialmente la familia de factores de transcripción *NAC-NOR* (Liu et al., 2022) y *SPL-CNR* (Lai et al., 2020). Por ejemplo, en fruto de tomate, *NOR186* (*NON-RIPENING-186*) regula positivamente la maduración uniéndose al promotor de *SIACS2*, un gen clave para la biosíntesis de etileno, y activando su expresión (Gao et al., 2020); y la mutación *CNR* (*COLOURLESS NON-RIPENING*), resultante de un cambio epigenético espontáneo en el promotor del gen *SBP-box* (*SQUAMOSA promoter binding protein-like* por sus siglas en inglés), da como resultado frutos incoloros con una pérdida sustancial de adhesión entre células, y por tanto una disminución en la firmeza del fruto (Manning et al., 2006). Cabe mencionar también los factores de transcripción *MADS-RIN*, que regulan la expresión de genes de biosíntesis y recepción de etileno, formación de carotenoides, aroma y metabolismo de la pared celular (Cao et al., 2020; Seymour et al., 2013). En frutos no climatéricos el etileno no controla la maduración del fruto, pero el factor homólogo de *MADS-RIN* en fresa sí está implicado en algunos aspectos de la

maduración, como el silenciamiento de genes relacionados con la pared celular (Merchante et al., 2013) o en la regulación de genes del metabolismo de fenilpropanoides (Vallarino et al., 2020).

En el caso de los frutos no climatéricos, donde se incluyen frambuesa y grosella, es el ABA quien tiene el papel principal en la maduración, promoviendo la síntesis de antocianinas, acumulación de azúcares, producción de compuestos volátiles asociados al aroma y ablandamiento del fruto entre otros procesos (Li et al., 2022). El contenido en ABA en fruto de fresa está controlado principalmente por la expresión de *FaNCED1*, que codifica la enzima 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase (NCED) (Liao et al., 2018). Muchos factores de transcripción de la familia *MYB* también regulan los niveles de ABA y favorecen la maduración del fruto de fresa, como *FvMYB79*, que a su vez está regulado por ABA, formando una retroalimentación positiva entre ambos (Cai et al., 2022), o *FaGAMYB* que induce la síntesis de ABA a través de otros factores de transcripción como *NCED1*, *NCED2*, *ABI5* (*ABA INSENSITIVE 5*) y *DREB1* (*DEHYDRATION RESPONSIVE ELEMENT BINDING 1*) (Sánchez-Gómez et al., 2022; Vallarino et al., 2015; Xie et al., 2020). El ABA también participa en la maduración de frutos climatéricos, mediante su propia acumulación y regulando la expresión de genes relacionados con la síntesis de etileno (Kou et al., 2021).

Otras hormonas implicadas en el proceso de maduración, tanto en frutos climatéricos como no climatéricos, son auxinas, citoquininas, giberelinas, brasinoesteroides y los ácidos jasmónico y salicílico. Tras la fecundación se produce un aumento de auxinas, giberelinas, citoquininas y brasinoesteroides, que son especialmente importantes durante las primeras fases de desarrollo del fruto, ya que aumentan los procesos de división y expansión celular provocando el aumento en tamaño de fruto (Fenn & Giovannoni, 2021; Sánchez-Gómez et al., 2022). Auxinas y giberelinas, en coordinación con ABA y etileno, parecen ser fundamentales para la regulación de estos primeros estadios de maduración en todos los frutos, sin embargo, el resto de las hormonas desempeñan un papel mayor o menor en función de cada especie (Fenn & Giovannoni, 2021). En estadios avanzados en la maduración de frutos no climatéricos, se conoce que el ABA y las auxinas tienen efecto antagónico entre ellas (Fenn & Giovannoni,

2021). En el caso de los frutos climatéricos, auxinas, giberelinas y citoquininas retardan la maduración, ya que las auxinas disminuyen la sensibilidad al etileno (Li et al., 2021b) y las giberelinas y citoquininas inhiben su síntesis (Li et al., 2017); por su parte, ABA, brasinoesteroides y ácido jasmónico, cuyos niveles van aumentando durante la maduración, favorecen la síntesis de etileno (Li et al., 2021b; Liu et al., 2016; Zhu et al., 2023) acelerando diferentes aspectos de la maduración. Por ejemplo, se ha observado que el tratamiento con ácido jasmónico impide el ablandamiento del fruto de tomate manteniendo la acumulación de carotenoides y licopeno (Liu et al., 2018). Del mismo modo, se ha reportado que, en frutos no climatéricos como la uva, el ácido jasmónico acelera los cambios de color y textura (Coelho et al., 2019), y la aplicación exógena de brasinoesteroides aumenta el peso del fruto, así como su contenido en azúcares y antocianinas, disminuyendo, además los niveles de ácidos orgánicos (Zheng et al., 2020). Respecto al ácido salicílico no se conoce bien el mecanismo de regulación durante la maduración, aunque sí se ha observado que en frutos climatéricos inhibe la síntesis de etileno (Li et al., 2021b). En general se conoce que la aplicación externa de ácido salicílico retrasa la maduración de muchos frutos (Changwal et al., 2021). Por ejemplo, se ha observado que en pera su concentración es más alta al comienzo de la maduración y va disminuyendo a lo largo de ésta (Oikawa et al., 2015); y en fruto de plátano el tratamiento con ácido salicílico disminuye el ablandamiento de la fruta, la relación pulpa:cáscara, el contenido de azúcares y la tasa de respiración (Srivastava & Dwivedi, 2000). Además, recientemente se ha demostrado que el ácido salicílico endógeno, al igual que el exógeno, tienen un papel importante regulando la producción de etanol durante la postcosecha en fruto de tomate (Changwal et al., 2021).

Es evidente que durante todo el proceso de desarrollo y maduración existe una gran interacción entre hormonas controlando y coordinando todos los procesos que ocurren en el fruto (Li et al., 2021b; Liao et al., 2018). Pero, además, otros metabolitos como los azúcares o las poliaminas también están implicados directamente en la maduración de los frutos como es recogido en las revisiones de Gao et al. (2021) y Rook et al. (2006). Se conoce que las poliaminas putrescina, espermina y espermidina tienen un papel en el control de la

maduración, especialmente en frutos no climatéricos. Por ejemplo, en fruto de fresa se observó un gran incremento en la espermina al comienzo de la coloración relacionado con un aumento en la expresión de *FaSAMDC* (*S-ADENOSYLMETHIONINE DECARBOXYLASE*), promoviendo la maduración del fruto a través la expresión de otros genes implicados en firmeza y contenido de poliaminas, azúcares, antocianinas y hormonas como etileno, ABA y auxina (Guo et al., 2018). En fruto de fresa, recientemente se ha publicado que mediante la inhibición de la expresión de *FaPAO5* (*POLYAMINE OXIDASE 5*), involucrado en la síntesis de una poliamina oxidasa que convierte la espermina en espermidina y luego en putrescina (Zarza et al., 2017), se favorece la acumulación de espermidina, espermina y ABA, favoreciendo una maduración más acelerada del fruto. Por el contrario, en frutos en los que se sobreexpresó *FaPAO5*, se encontró el efecto opuesto reforzando esta hipótesis (Mo et al., 2020). En frutos climatéricos, no hay evidencias de que las poliaminas estén directamente involucradas en la maduración del fruto, aunque parece que limitan la tasa de maduración o la sobremaduración (Tassoni et al., 2006). Por ejemplo, en fruto de tomate Cherry se ha observado que los niveles de putrescina aumentan gradualmente durante la maduración y alcanzan su máximo en la etapa de madurez, mientras que los niveles de espermidina y espermina disminuyen durante el proceso de maduración (Tsaniklidis et al., 2016).

En cuanto a los azúcares, hay claras evidencias de la participación de sacarosa, glucosa, fructosa y trealosa-6P, entre otros, en procesos de maduración del fruto (Liu et al., 2013). Por ejemplo, en el estudio de Jia et al. (2013) se observa que existe una estrecha correlación entre los cambios en el contenido en sacarosa y el crecimiento y desarrollo del fruto de fresa; además, la sacarosa exógena y su análogo no metabolizable turanosa indujeron la acumulación de ABA en el fruto provocando la aceleración de su maduración. También se ha demostrado que ABA y sacarosa tienen un efecto sinérgico acelerando la maduración del fruto de fresa (Luo et al., 2020). Se profundizará más sobre la señalización de azúcares y su interacción con hormonas durante la maduración del fruto en el capítulo 1.

3.2. Influencia de factores externos en la calidad del fruto

Las predicciones sobre el cambio climático pronostican un aumento global de la temperatura, cambios en los patrones de precipitación y condiciones climáticas extremas que afectarán a los procesos fisiológicos de las plantas, influyendo también en la calidad de los frutos. En general, todo ello implicará un gran impacto socioeconómico. Debido a esto, existe una necesidad urgente de conocer mejor cuales son las respuestas de las plantas a estos cambios en los factores ambientales, ya que esto ayudará a desarrollar nuevos genotipos con cierta tolerancia a dichos cambios, permitiendo así anticiparse al impacto en la agricultura.

Además, se conoce que estos factores externos como la disponibilidad de agua, la temperatura, la radiación, la luz o la salinidad, influyen no sólo el crecimiento y desarrollo vegetativo de la planta, sino que también afectan al proceso de maduración del fruto, afectando a su calidad (DaMatta et al., 2010). Por ejemplo, recientemente se ha observado que en fruto de arándano los factores de transcripción tipo MYB, como *VcMYBA1*, *VcMYBPA1* y *VcMYBC2*, relacionados con la acumulación de antocianinas, están inducidos por la radiación UV-B (Li et al., 2021a). En fruto de uva también se ha visto que la radiación UV desencadena una cascada de señalización que activa *VvFLS1* (*FLAVONOL SYNTHASE 1*), *VvGT5* y *VvGT6* (*flavonol glycosyltransferases*), implicados en la biosíntesis de fenilpropanoides y terpenoides (Carbonell-Bejerano et al., 2014). La radiación UV-B y el ABA también han demostrado tener un efecto sinérgico incrementando la biosíntesis de fenoles en los estadios finales de la maduración en este fruto (Berli et al., 2011). Del mismo modo, se ha observado que la radiación UV-C aumenta la actividad de la enzima PAL (*phenylalanine amonia lyase* por sus siglas en ingles), así como el contenido total de fenoles, antocianinas y ácido ascórbico en fruto de fresa (de Oliveia et al. 2016).

Se ha descrito que la luz activa la expresión de *PavBBX6* y *PavBBX9*, pertenecientes a la familia de genes *b-box*, que desencadenan la biosíntesis de ABA estimulando la producción de antocianinas en fruto de cereza (Wang et al., 2023). Además, en fresa, al aumentar la exposición a la luz aumenta la expresión

de *FaMYB10*, que acelera la síntesis y acumulación de antocianinas en el fruto (Kadomura-Ishikawa et al., 2015). Recientemente, también se ha observado que en fruto de zarzamora (*Rubus hongnoensis*) la luz roja aumenta el contenido total de fenoles y la combinación de luz roja, verde y blanca aumenta el contenido total en flavonoides (Oh et al., 2021).

La temperatura influye también en la producción y calidad de los frutos, por ejemplo, se ha descrito que un aumento excesivo de la temperatura puede detener la acumulación de azúcares y la maduración en fruto de uva (Greer & Weedon, 2013). También se ha observado que en fresa a temperaturas intermedias (18°/10 °C) las plantas producen antes los frutos y en mayor cantidad, pero a bajas temperaturas (16°/8 °C) los frutos presentan más cantidad de azúcar, menos ácidos y mejor sabor (Massa et al., 2015), por lo que podría decirse que cuando la maduración ocurre a bajas temperaturas, los frutos tienen mayor calidad, aunque la producción se ve perjudicada. A nivel molecular se ha visto que las bajas temperaturas provocan la fosforilación de *FvMYB10* inhibiendo la acumulación de antocianinas (Mao et al., 2022), influyendo, además, en otros aspectos de la calidad del fruto de fresa como el color y la capacidad antioxidante (Li et al., 2021a). Esto coincide con un estudio realizado en fruto de jujube, en el que aumentando la temperatura entre 1.5 y 2.5°C aumenta significativamente la cantidad de antocianinas, flavonoides, carotenoides y azúcares (Jiang et al., 2020). Un comportamiento similar fue observado en grosella negra, en el que un aumento de temperatura de 12 a 18°C provocó un aumento de las antocianinas mayoritarias en el fruto, delphinidin-3-O-rutinoside y cyanidin-3-O-rutinoside (Allwood et al., 2019). Sin embargo, cuando la temperatura aumenta a 24°C, se observó que el contenido de estos compuestos disminuye, seguramente debido a su degradación por calor extremo (Allwood et al., 2019; Romero et al., 2021). En un estudio realizado en frambuesa, se midió la composición química de los frutos a diferentes temperaturas (12, 18 y 24°C) y se observó que a baja temperatura aumenta la concentración de ácido ascórbico, mientras que al subir la temperatura aumenta significativamente el contenido en elagitaninos y se producen cambios en la concentración de las antocianinas mayoritarias, por ejemplo, la cianidina-3-soforosida disminuye mientras que la cianidina-3-O-glucosilrutinosida) rutinósida

aumenta. En cuanto a los ácidos orgánicos mayoritarios en el fruto, ácido cítrico y ácido málico, en una revisión reciente se ha reportado que, aunque el grado de variación depende de la especie estudiada, generalmente una subida de temperatura aumenta la concentración de ácido cítrico y disminuye la de ácido málico (Romero et al., 2021). En frutos rojos, esto se ha descrito en grosella negra (Woznicki et al., 2017) y fresa (Sarıdaş, 2021).

En cuanto a la salinidad, Mizrahi (1982) demostró que en plantas tratadas con sal se incrementaban todos los parámetros relacionados con el proceso de maduración del fruto de tomate: tiempo de desarrollo, pigmentación, contenido en sólidos solubles, sabor, ablandamiento, vida postcosecha, producción de etileno y CO₂, etc.

Es evidente que la disponibilidad de agua es un factor importante para la producción de cualquier fruto. En el caso del fruto de fresa, por ejemplo, se ha observado que aumentando la cantidad de agua disponible se incrementa tanto el peso como la cantidad de frutos producidos (Yuan et al., 2004). Sin embargo, estudios más recientes han demostrado que en déficit de riego aumenta la cantidad en el fruto de algunos compuestos fenólicos, azúcares, ácidos orgánicos y aumenta el ratio azúcar/ácido. Esto se ha observado en frutos de algunas variedades de fresa como “Flamenco”, aunque esta tendencia no se cumple en otras variedades estudiadas como “Eva’s Delight”, en las que las plantas con déficit de irrigación produjeron frutos con menor cantidad de azúcares y ácidos orgánicos (Weber et al., 2017).

4. Análisis metabólicos

Los distintos aspectos asociados a la calidad de los frutos están condicionados por una inmensa cantidad y variedad de metabolitos, que podrían verse como el producto final de la expresión genética (Weckwerth & Fiehn, 2002). Se considera que los metabolitos representan mejor al fenotipo y cambian más rápido que el material genético, mostrando los eventos biológicos que están ocurriendo en ese preciso instante, y poniendo de manifiesto la gran importancia de los estudios metabólicos en los programas de mejora (Nicholson et al., 2011).

4.1. Herramientas metabolómicas

Los metabolitos comprenden un grupo muy diverso de compuestos que presentan diferentes propiedades físico-químicas, por lo que para generar un perfil metabólico son necesarias distintas técnicas de análisis y de separación. Las dos técnicas principales de detección para el estudio de perfiles metabolómicos son la espectrometría de masas (EM) y la resonancia magnética nuclear (RMN). La RMN presenta varias ventajas respecto a la EM como alta reproducibilidad, cuantificación absoluta y que sea una técnica no destructiva, sin embargo, la EM ofrece una alta sensibilidad, permitiendo detectar más metabolitos, y puede combinarse con técnicas de separación como la cromatografía de gases (CG) o la cromatografía líquida (CL) para cuantificar las diferentes clases de metabolitos (Augustijn et al., 2021). La EM se basa en la medición de la relación masa-carga de especies iónicas. Tras la inyección de la muestra en el instrumento y su evaporación, los metabolitos se cargan mediante distintos métodos de ionización, como la ionización electrónica (IE), ionización por electroespray (ESI, por sus siglas en inglés), ionización química (IQ), o desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI, por sus siglas en inglés). Para obtener una amplia cobertura del metaboloma, la ionización debe realizarse tanto en modo positivo como negativo (Dettmer et al., 2007). Finalmente, las especies iónicas serán analizadas dependiendo de su relación masa-carga (m/z) en el analizador, como cuadrupolo (Q), tiempo de vuelo (TOF, por sus siglas en inglés), trampa de iones (TI) y Resonancia de Ciclotrón Iónico por Transformada de Fourier (FT-ICR, por sus siglas en inglés). Los analizadores del EM también pueden ser híbridos, como el triple cuadrupolo (QQQ) o el Q-TOF, que combina un solo cuadrupolo Q-EM y un TOF-EM; o puede presentar un sistema EM en tándem (EM/EM), que implica la fragmentación de iones precursores en otros iones que se detectan en una segunda etapa de EM. Dentro de los analizadores de masas uno de los más elegidos, debido a su alta resolución, sensibilidad, robustez y precisión de masa, además de su extenso rango dinámico, calibración de masa más fácil y capacidades de masa en tándem, es Orbitrap (Yan et al., 2022), que funciona a modo de trampa iónica donde los diferentes iones oscilan a diferentes frecuencias, dando lugar a su separación.

La CL-EM tiene muchas aplicaciones, ya que es capaz de separar y medir una gran cantidad de familias de compuestos, incluso en mezclas complejas, utilizando una combinación de diferentes métodos de extracción, columnas de separación y detección de masas. La CL-EM es una de las herramientas más empleadas en la actualidad para los análisis de metabolitos del metabolismo secundario (Bakir et al., 2020; Ciocan et al., 2023; Fayek et al., 2021; Michailidis et al., 2020; Olennikov et al., 2020; Otify et al., 2023; Vitalini et al., 2020; Xu et al., 2020b). Una de las técnicas más utilizadas para estudios metabolómicos es la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC, por sus siglas en inglés), que separa los componentes de la muestra basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica, mediante su inyección en una fase móvil (líquida) que pasa a través de una fase estacionaria (columna cromatográfica). La utilización de los diferentes detectores dependerá de la naturaleza de los compuestos a determinar. El primer tipo de HPLC utilizado fue el denominado de fase normal (NP-HPLC, por sus siglas en inglés) que consiste en una fase estacionaria polar y una fase móvil apolar, y se usa cuando el compuesto de interés presenta una alta polaridad. Hoy en día, debido a su versatilidad, se utiliza mucho más la cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa (RP-HPLC, por sus siglas en inglés), que consiste en una fase estacionaria apolar y una fase móvil moderadamente polar. La resolución cromatográfica del HPLC ha sido mejorada por la cromatografía líquida de ultra rendimiento (UPLC, por sus siglas en inglés), que además ofrece mayor sensibilidad, permitiendo una mayor resolución en la separación de metabolitos, y mayor velocidad de análisis, lo que hace que se esté convirtiendo en la opción más comúnmente empleada (Dettmer et al., 2007). En la tabla 1 se muestran varios ejemplos de trabajos metabolómicos en diferentes frutos empleando las distintas técnicas de CL mencionadas.

En CL-EM se pueden diferenciar dos enfoques metodológicos: no dirigido, que abarca todas las señales de metabolitos detectadas para proporcionar una visión general metabólica; y dirigido, que se centra en determinados grupos de metabolitos caracterizados químicamente y anotados bioquímicamente, teniendo también en cuenta la información estructural del análisis de espectrometría de masas en tándem (EM/EM), extractos de referencia, análisis

de mutantes y recursos web (Shimizu et al., 2018). La CL-EM/EM se utiliza para identificar más especies de metabolitos o para detectar clases de metabolitos individuales, y se ha hecho muy popular debido a su alta sensibilidad y versatilidad, a no necesitar derivatización química y, además, por la llegada de nuevas técnicas de ionización (Cui et al., 2018). Para análisis metabolómicos no dirigidos la CG presenta diversas ventajas respecto a CL, ya que ofrece una mayor resolución, permite la cuantificación de metabolitos de bajo peso molecular (inferior a 600Da) como los compuestos volátiles, y puede medir distintas clases de compuestos con un solo tipo de columna. Además, existe una base de datos de picos estandarizados muy grande y, debido a su modo de ionización mediante la fragmentación de moléculas según su estructura, facilita su identificación y reduce la necesidad de espectrometría de masas en tándem (Papadimitropoulos et al., 2018).

La CG-EM acoplada a la microextracción en fase sólida de espacio de cabeza (HS-SPME, por sus siglas en inglés) es la técnica de referencia para la elaboración de perfiles metabolómicos de compuestos volátiles, que logra que los compuestos volátiles presentes en las muestras alcancen el equilibrio en el espacio de cabeza en un espacio confinado, antes de hacerlos pasar por una fibra de extracción recubierta con determinados materiales que permiten su adsorción, hasta que se alcanza una fase de equilibrio, seguido de una elución térmica de estos metabolitos de la fibra y su entrada en el CG por flujo de gas (Alshehri et al., 2020; Lioupi et al., 2022; Wang et al., 2022). En los últimos años muchos autores han elegido estas técnicas para el estudio de perfiles de compuestos volátiles en frutos (Brendel et al., 2021; Farag et al., 2022; Fella et al., 2022; Khalil et al., 2017; Li et al., 2021c; Lieb et al., 2018; Mihaylova et al., 2022; Muto et al., 2020; Pott et al., 2021a; Singh & Sharma, 2022; Xin et al., 2018). La CG-EM es también una de las técnicas más elegidas para la elaboración de perfiles de metabolitos primarios y recientemente se ha utilizado para muchos estudios en fruto (Allwood et al., 2019; Cuadros-Inostroza et al., 2016; Farag et al., 2022; Fayek et al., 2021; Li et al., 2019; Michailidis et al., 2020; Otify et al., 2023; Ramadan et al., 2020; Rodrigues et al., 2021; Singh & Sharma, 2022; Vallarino et al., 2020). Sin embargo, la CG-EM está limitada a metabolitos de bajo peso molecular (50-600Da) y compuestos volátiles, por lo que a los

metabolitos no volátiles, termolábiles y polares es necesario someterlos a un proceso químico de derivatización antes del análisis (Beale et al., 2018), que reduce su polaridad y aumenta su volatilidad. El análisis de masas para CG se puede realizar con diferentes instrumentos, como tiempo de vuelo o cuadrupolo, siendo TOF la que presenta mayor sensibilidad (Aebi et al., 2002). En la tabla 2 se muestran varios ejemplos de trabajos metabolómicos en diferentes frutos empleando las distintas técnicas de CG mencionadas.

Tabla 1: Plataformas de cromatografía líquida empleadas para diferentes estudios metabolómicos en fruto en los últimos 5 años (2018-2023).

Plataforma	Analizador	Fruto	Referencia
UPLC-ESI-EM/EM	QQQ (Q-TRAP)	Sandía (<i>Citrullus spp.</i>)	Yuan et al., 2021
HPLC-ESI-EM	TI (Esquire 6000)	Manzana (<i>Malus domestica</i>) y pera (<i>Pyrus communis</i>)	Commisso et al., 2021
UPLC-ESI-EM/EM		Piña (<i>Ananas comosus</i>)	Gao et al., 2022
UPLC-EM	TI (Orbytrap)	Mikan (<i>Citrus unshiu</i>)	Kim et al., 2022a
UPLC-EM	Q-TOF	Pitaya (<i>Hylocereus polyrhizus</i>)	Wu et al., 2019
CL-EM	Q-TOF	Manzana rosa (<i>Syzygium samarangense</i>)	Jamil et al., 2018
HPLC-ESI-EM	TI (Orbytrap)	Grosella negra (<i>Ribes nigrum</i>)	Allwood et al., 2019
HPLC-ESI-EM	Q	Fresa (<i>Fragaria viridis</i>)	Olennikov et al., 2020
HPLC-EM	TI (Orbytrap)	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	Bakir et al., 2020
HPLC-EM		Aceituna (<i>Olea europea</i>)	Fayek et al., 2021
UPLC-ESI-EM/EM	Q-TOF	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	Otify et al., 2023
HPLC-ESI-EM	QQQ (Q-TRAP)	Manzana (<i>Malus domestica</i>)	Xu et al., 2020a
HPLC-ESI-EM	Q-TOF	Fresa (<i>Fragaria × ananassa</i>)	Nascimento et al., 2019a
HPLC-EM/EM		Aceituna (<i>Olea europea</i>)	Jiménez-Herrera et al., 2019
UPLC-ESI-EM/EM	QQQ (Q-TRAP)	Baya de Goji (<i>Lycium barbarum</i>)	Shi et al., 2019
UPLC-ESI-EM	Q-TOF	Acerola (cereza) (<i>Malpighia emarginata</i>)	Xu et al., 2020b

HPLC-ESI-EM y EM/EM	TI (Orbytrap)	Aceituna (<i>Olea europea</i>)	Alves et al., 2019
HPLC-ESI-EM	Q-TOF	Uva (<i>Vitis vinifera</i>)	VanderWeide et al., 2018
HPLC-ESI-EM/EM	TI (Orbytrap)	Arándano (<i>Vaccinium corymbosum</i>)	Yang et al., 2023
UPLC-ESI-EM/EM	Q	Fresa (<i>Fragaria × ananassa</i>)	Wang et al., 2023
UPLC-ESI-EM/EM	TI (Orbytrap)	Coco (<i>Cocos nucifera</i>)	Guo et al., 2022
HPLC-EM	TI (Orbytrap)	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	Kim et al., 2022b
HPLC-EM/EM	TI (Orbytrap)	Ginseng (<i>Panax ginseng</i>)	Choi et al., 2021
HPLC-ESI-EM	Q-TOF	Cebolla (<i>Allium cepa</i>)	Metrani et al., 2020
CL-ESI-EM	Q-TOF	Naranja (<i>Citrus sinensis</i>)	Affi et al., 2023
UPLC-EM	Q-TOF	Melocotón (<i>Prunus persica</i>)	Zhang et al., 2020
HPLC-ESI-EM/EM	QQQ (Q-TRAP)	Baya de Goji (<i>Lycium barbarum</i>)	Wang et al., 2020
HPLC-ESI-EM	QQQ	Kiwano (melón africano) (<i>Cucumis metuliferus</i>)	Maluleke, 2022
HPLC-ESI-EM	TI (Orbytrap)	Fresa (<i>Fragaria × ananassa</i>)	Zheng et al., 2022
UPLC-ESI-EM/EM	QQQ (Q-TRAP)	Pera (<i>Pyrus bretschneideri</i> Rehd.)	Zhang et al., 2023
UPLC-EM/EM	QQQ (Q-TRAP)	Pimienta (<i>Zanthoxylum bungeanum</i>)	Fei et al., 2022
HPLC-ESI-EM/EM	QQQ (Q-TRAP)	Melón (<i>Cucumis melo</i>)	Zhang et al., 2021b
HPLC-EM/EM	QQQ (Q-TRAP)	Litchi (<i>Litchi chinensis</i>)	Jiang et al., 2023
UPLC-ESI-EM/EM	Q	Cereza (<i>Prunus avium</i>)	Yang et al., 2021a
UPLC-EM	Q-TOF	Frambuesa china (<i>Rubus chingii</i>)	Chen et al., 2021
UPLC-ESI-EM/EM	QQQ (Q-TRAP)	Papaya (<i>Carica papaya</i>)	Zheng et al., 2021a
HPLC-ESI-EM	Q	Uva (<i>Vitis vinifera</i>)	Villano et al., 2023
LC-ESI-EM/EM	QQQ (Q-TRAP)	Pepino (<i>Cucumis sativus</i>)	Ren et al., 2023
UPLC-ESI-EM/EM	QQQ (Q-TRAP)	Kiwi (<i>Actinidia sp.</i>)	Sun et al., 2021b

Tabla 2: Plataformas de cromatografía gaseosa empleadas para diferentes estudios metabolómicos en fruto en los últimos 5 años (2018-2023).

Plataformas	Fruto	Referencia
CG-EM y SPME-CG-EM	Mikan (<i>Citrus unshiu</i>)	Kim et al., 2022a
CG-TOF-EM	Pitaya (<i>Hylocereus polyrhizus</i>)	Wu et al., 2019
CG-EM	Cereza (<i>Prunus avium</i>)	Karagiannis et al., 2018
HS-SPME-CG-EM	Grosella negra (<i>Ribes nigrum</i>)	Pott et al., 2021a
CG-EM	Carambola (<i>Averrhoa Carambola</i>)	Ramadan et al., 2020
HS-SPME-CG-EM y CG-EM	Albaricoque (<i>Prunus armeniaca</i>)	Farag et al., 2022
HS-SPME-CG-EM	Melocotón (<i>Prunus persica</i>)	Mihaylova et al., 2022
HS-CG-EM	Naranja (<i>Citrus sp.</i>)	Brendel et al., 2021
HS-SPME-CG-EM	Fruta de la pasión (<i>Passiflora edulis</i> SiEM)	Li et al., 2021c
SPME-CG-EM	Melocotón (<i>Prunus persica</i>)	Xin et al., 2018
CG-EM	Espino amarillo (<i>Hippophae rhamnoides</i>)	Singh & Sharma, 2022
HS-SPME-CG-EM	Papaya (<i>Carica papaya</i>)	Lieb et al., 2018
CG-TOF-EM	Melocotón (<i>Prunus persica</i>)	Muto et al., 2020
CG-EM	Fresa (<i>Fragaria × ananassa</i>)	Nascimento et al., 2019a
CG-EM	Mango (<i>Mangifera indica</i>)	Khanum et al., 2020
CG-EM	Banana (<i>Musa sp.</i>)	Nascimento et al., 2019b
CG-EM y H-RMN	Nectarina (<i>Prunus persica</i>)	Covarrubias et al., 2021
CG-EM	Higo (<i>Ficus carica</i>)	Allegra et al., 2018
SPME-CG-EM/O	Carambola (<i>Averrhoa Carambola</i>)	Li et al., 2023a
HS-SPME-CG-M	Coco (<i>Cocos nucifera</i>)	Guo et al., 2022
CG-TOF-EM	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	Kim et al., 2022b
CG-EM	Cebolla (<i>Allium cepa</i>)	Romo-Pérez et al., 2020
HS-SPME-CG-M	Pera (<i>Pyrus spp.</i>)	Li et al., 2023b
CG-Q-EM	Piña (<i>Ananas comosus</i>)	Ikram et al., 2020
SPME-CG y H-RMN	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	D'Angelo et al., 2018
CG-TOF-EM	Ginseng (<i>Panax ginseng</i>)	Choi et al., 2021
CG-EM	Piña (<i>Ananas comosus</i>)	Ikram et al., 2021
CG-EM	Fresa (<i>Fragaria × ananassa</i>)	Min et al., 2020
CG-EM/EM	Fresa (<i>Fragaria × ananassa</i>)	Zheng et al., 2022
HS-SPME-CG-EM	Uva (<i>Vitis vinifera</i>)	Villano et al., 2023
HS-SPME-CG-EM	Cidro (<i>Citrus medica</i>)	Xu et al., 2019
HS-SPME-CG-EM	Uva (<i>Vitis vinifera</i>)	He et al., 2020
HS-SPME-CG-EM	Uva (<i>Vitis vinifera</i>)	Yue et al., 2022

4.2. Integración de datos metabolómicos enfocados a la identificación de marcadores moleculares aplicables en los programas de mejora de fruto

El deseo de mejorar la cantidad y calidad de los cultivos es prácticamente tan antiguo como la propia agricultura, y hoy en día, puede lograrse mediante el uso de tres técnicas diferentes: selección artificial, hibridación y mejora molecular. Gracias al gran avance en la secuenciación genética de las últimas décadas se han desarrollado técnicas de mejora moleculares muy eficientes, como la selección asistida por marcadores (MAS, por sus siglas en inglés) o la modificación genética que han permitido el cambio de una selección basada exclusivamente en el fenotipo a una selección que atiende a genotipo más fenotipo (Shen et al., 2022), impulsando así la selección de regiones genómicas (o *loci*) asociadas a un fenotipo de interés.

El desarrollo de perfiles metabolómicos nos proporciona un análisis cualitativo y cuantitativo completo de los numerosos metabolitos presentes en una muestra biológica en un momento fisiológico concreto. La integración de estos datos metabolómicos mediante análisis estadísticos multivariantes proporciona una herramienta poderosa para (I) realizar estudios comparativos entre determinados genotipos o variedades, condiciones de crecimiento y/o cambios ambientales, (II) esclarecer el funcionamiento y regulación de rutas metabólicas, (III) así como identificar biomarcadores metabólicos que afecten a la calidad del fruto (Romero et al., 2021). Recientemente, se han llevado a cabo muchos de estos estudios de integración metabolómica en frutos. Por ejemplo, en un estudio comparativo entre diferentes variedades de frutos de manzana y pera, se han caracterizado variedades que podrían resultar atractivas para los consumidores por su alto contenido en polifenoles en el caso de la manzana o bajo contenido en sacarosa en el fruto de pera (Commisso et al., 2021). Gracias a otro estudio reciente, mediante la identificación de diferencias significativas entre los perfiles metabolómicos de la variedad silvestre y cultivada de fruto de sandía, se ha conseguido entender un poco más sobre los diferentes procesos que han ocurrido a lo largo de la domesticación (Yuan et al., 2021). Además de comparativas entre variedades, estas técnicas también se están aplicando para comparar el metaboloma de distintos estadios del desarrollo, así como diferentes

tejidos del mismo fruto. Por ejemplo, se ha estudiado el perfil metabolómico de pericarpio, piel y semillas en fruto de melón amargo, mostrando que el pericarpio y las semillas contenían cantidades significativas de compuestos fenólicos y flavonoides, mientras que la piel contenía una mayor cantidad de fitoesteroles (Mishra et al., 2021). Recientemente, otro estudio compara los perfiles metabolómicos de fruto de mikan a lo largo de las diferentes etapas del desarrollo, mostrando cambios significativos en la cantidad de azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos, flavonoides, carotenoides y compuestos volátiles, en base a lo cual sus autores proponen una ruta metabolómica que conecta todos estos metabolitos, y muestra en qué etapas del desarrollo del fruto se está favoreciendo la síntesis o degradación de cada uno de ellos (Kim et al., 2022a). Otro estudio compara los perfiles metabolómicos de fruto de pitaya en diferentes estadios de su desarrollo tanto en la piel como en la pulpa, y sugieren que la disminución de aminoácidos, así como el incremento de azúcares y ácidos orgánicos observados en la pulpa pueden contribuir en la formación de betalainas, un grupo de pigmentos con propiedades nutracéuticas (Wu et al., 2019). También se han comparado los perfiles metabolómicos de frutos de cereza en el momento de la cosecha y tras su almacenamiento postcosecha en frío, mostrando diferencias en la concentración de ocho azúcares solubles, incluyendo una disminución de fucosa y un aumento de xilosa y arabinosa que podrían explicar el aumento en la tasa de respiración y la disminución en el contenido en sólidos solubles que también se observan en los frutos (Karagiannis et al., 2018).

La combinación de la metabolómica con otras ciencias ómicas como genómica, transcriptómica o proteómica, nos ofrece una visión más holística y puede ayudarnos a entender mejor los mecanismos biológicos que subyacen en los procesos fisiológicos (Beale et al., 2018). Por ejemplo, la combinación de técnicas metabolómicas, como la cuantificación de metabolitos a través de EM, con técnicas de secuenciación de nueva generación (NGS, por sus siglas en inglés) han permitido desarrollar estrategias para la mejora de diferentes cultivos (Pandey et al., 2016; Pott et al., 2021b; Yang et al., 2021b). La integración de datos metabolómicos y transcriptómicos también pueden ser una gran estrategia para la mejora de determinadas características de los cultivos. Por ejemplo, se

han obtenido resultados muy interesantes combinando los perfiles metabolómicos de flavonoides obtenidos por UPLC con análisis de secuenciación de ARN de alto rendimiento, obteniendo correlaciones entre la biosíntesis de antocianinas y un aumento en la expresión de los genes *PAL2* (*PHENYLALANINE AMMONIA LYASE 2*), *CHS* (*CHALCONE SYNTHASE*) y *CHI* (*CHITINASE*), asociándolo con la pigmentación de tres variedades de tubérculo de patata (Cho et al., 2016). Otro estudio reciente, que integra metabolómica y transcriptómica, ha reportado una correlación entre el contenido en sacarosa, el azúcar mayoritario, y 15 genes candidatos, así como entre el contenido en ácido cítrico, el ácido orgánico mayoritario, y 19 genes candidatos en dos variedades de fruto maduro de piña (Gao et al., 2022).

La mayoría de las características asociadas a la calidad de los cultivos son cuantitativas, por lo que muestran una variación continua debido a su herencia poligénica y a las influencias ambientales. A las regiones del ADN que se correlacionan con la variación de un rasgo cuantitativo en el fenotipo de una población de organismos se le denomina loci de rasgos cuantitativos o QTL, por sus siglas en inglés. Para el mapeo de QTL se utiliza una población biparental procedente de un cruce entre dos progenitores con rasgos contrastados. De esta forma, mediante el empleo de mapas de ligamiento junto con la caracterización fenotípica de un rasgo determinado, podemos estimar el número de *loci* que rigen estos rasgos y la identificación de sus posiciones en el genoma (Tanksley, 1993; Zorrilla-Fontanesi et al., 2011). La identificación de QTL que controlan determinadas características de interés y el descubrimiento de marcadores vinculados a estos QTL, están permitiendo la mejora asistida por marcadores en muchos cultivos para la obtención de cosechas de alta calidad (Pott et al., 2018). En particular, la identificación de *loci* metabólicos de rasgos cuantitativos (mQTL) mediante la integración de datos metabolómicos, genómicos y transcriptómicos, ha demostrado ser un método eficaz para el análisis de características agronómicas, así como para entender mejor los mecanismos moleculares de rasgos importantes de la ruta genómica y metabólica subyacente (Bilbrey et al., 2021; Vallarino et al., 2019; Wei et al., 2023). Consiste en el empleo de herramientas metabolómicas para detectar mQTL asociado a determinadas características metabolómicas, y tras realizar un análisis de ligamiento de los

metabolitos de interés, los hallazgos se contextualizan con el genoma anotado actual (Bilbrey et al., 2021). Por ejemplo, en un estudio reciente realizado en fruto de fresa, mapearon 152 mQTL de flavonoides y 26 QTL asociados al color que co-localizan en algunos grupos de ligamiento con los principales QTL relacionados con el sabor y los flavonoides previamente descubiertos, incluyendo un mQTL para pelargonidina-3-glucósido, la antocianina más abundante en fruto de fresa, que explicaba de un 14% a un 27% de su variación (Labadie et al., 2020). Pott et al., (2020) también identificaron 309 mQTL para 77 metabolitos secundarios polares en fruto de fresa y observaron una asociación entre la expresión de *FaF3'H*, que codifica la proteína flavonoide 3'-hidroxilasa, y un mayor contenido de flavonoides. En otro trabajo realizado en fruto de grosella negra se han identificado QTLs para las antocianinas principales asociadas al color del fruto, delfinidina-3-O-glucósido y cianidina-3-O-glucósido, que co-localizaron con un QTL para el contenido total de antocianina en el grupo de ligamiento (GL) 3, así como delfinidina-3-O-rutinósido y cianidina-3-O-rutinósido en los GL1 y GL2; además uno de los QTL del GL3 explicaba más del 60% de la variación en los metabolitos cumaroilados (Abreu et al., 2020). Los mQTL identificados podrían usarse para diseñar estrategias para mejorar la calidad de frutos mediante ingeniería metabólica dirigida (Vallarino et al., 2019).

Una de las desventajas que presenta el estudio de QTLs empleando poblaciones biparentales es la propia generación de la población. Otro enfoque más novedoso para la identificación de variantes genéticas hereditarias en una población natural, que permite identificar QTL de forma muy eficiente, es el mapeo de ligamientos mediante estudios de asociación del genoma completo (GWAS, por sus siglas en inglés) (Pott et al., 2021b). Los GWAS aprovechan al máximo las poblaciones naturales, asumiendo que a lo largo del tiempo han sufrido un elevado número de eventos de recombinación y, por tanto, presentan mucha más diversidad genética (Vallarino et al., 2023). Los análisis de GWAS se basan en el desequilibrio de ligamiento, los polimorfismos de nucleótido único (SNP, por sus siglas en inglés) y la variación fenotípica para identificar *loci* subyacentes a un rasgo particular abarcando el genoma completo (Li, 2020), permitiendo así establecer una relación estadística entre los marcadores genéticos y los fenotipos dentro de las poblaciones naturales, y constituyendo un

enfoque eficaz y prometedor para la partición de rasgos complejos (Khan et al., 2021). La combinación de GWAS con plataformas metabolómicas (mGWAS) ha permitido la detección simultánea de un gran número de marcadores genéticos para el contenido en metabolitos primarios en varios cultivos que son económicamente importantes, como tomate, arroz y maíz (Pott et al., 2021b), demostrando ser una técnica poderosa para diseccionar los procesos bioquímicos y genéticos de estos cultivos (Yang et al., 2021b). Un claro ejemplo del potencial de esta aproximación para la agricultura es el estudio de Ye et al. (2017) en tomate. En este estudio se identificó el gen *Sl-ALMT9* (*ALUMINUM-ACTIVATED MALATE TRANSPORTER 9*) como necesario para la acumulación de malato, ácido orgánico mayoritario, durante la maduración del fruto. El análisis filogenético revela que *Sl-ALMT9* podría haber sido un factor crítico durante el proceso de domesticación y mejora del fruto, brindando así la oportunidad de mejorar las cualidades de sabor y resistencia para otras variedades. Otro estudio muy reciente ha identificado *loci* implicados en la calidad postcosecha del fruto de mora, reportando un 68% de heredabilidad en la firmeza del fruto, de la cual un 27% de la variación se asocia a tres homólogos de poligalacturonasa, pectina metilesterasa y glucano endo-1,3- β -glucosidasa, que se ubicaron en los cromosomas Ra06, Ra01 y Ra02, respectivamente (Chizk et al., 2023).

Por supuesto, la bioinformática es indispensable para la integración y organización de los datos obtenidos a partir de las tecnologías ómicas, además de ayudarnos a interpretar la información y proporcionar un medio fácil para acceder a bases de datos (Ambrosino et al., 2020; Yang et al., 2021b). En definitiva, los avances en metabolómica, genómica y transcriptómica, y su integración, junto con otras plataformas de fenotipado de alto rendimiento y procesamiento de datos, nos permiten hallar nuevos genes candidatos, regiones genómicas subyacentes, redes de genes, metabolitos y otras moléculas de señalización implicadas en la calidad de los frutos y en cómo pueden afectar a dicha calidad los cambios ambientales.

OBJETIVOS



OBJETIVOS

Esta tesis comprende dos objetivos principales, divididos en tres capítulos:

1. Esclarecer el papel de los azúcares como moléculas de señalización en procesos relacionados con la maduración y la calidad del fruto.
2. Estudio del impacto del ambiente, así como la interacción genotipo x ambiente (GxE) en la calidad del fruto de frambuesa y grosella negra mediante aproximaciones metabolómicas. Para ello nos hemos planteado los siguientes objetivos específicos:
 - 2.1 Empleo de herramientas “ómicas” para la caracterización organoléptica y nutricional de frutos maduros de cuatro variedades comerciales de frambuesa y grosella negra en diferentes ambientes.
 - 2.2 Identificación de marcadores metabolómicos relacionados con la calidad de fruto y estudio de su dependencia del genotipo y/o del ambiente.



CAPÍTULO 1:

Sugar signaling during fruit ripening



Sugar signaling during fruit ripening

Durán-Soria S., Pott D.M., Osorio S. & Vallarino J.G. (2020). Sugar Signaling During Fruit Ripening. *Frontiers in Plant Science* 11:564917.

Sugars play a key role in fruit quality, as they directly influence taste, and thus consumer acceptance. Carbohydrates are the main resources needed by the plant for carbon and energy supply and have been suggested to be involved in all the important developmental processes, including embryogenesis, seed germination, stress responses, and vegetative and reproductive growth. Recently, considerable progresses have been made in understanding regulation of fruit ripening mechanisms, based on the role of ethylene, auxins, abscisic acid, gibberellins, or jasmonic acid, in both climacteric and non-climacteric fruits. However, the role of sugar and its associated molecular network with hormones in the control of fruit development and ripening is still poorly understood. In this review, we focus on sugar signaling mechanisms described up to date in fruits, describing their involvement in ripening-associated processes, such as pigments accumulation, and their association with hormone transduction pathways, as well as their role in stress-related responses.

Doi: <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2020.564917>



CAPÍTULO 2:

Exploring genotype-by-environment interactions of chemical composition of raspberry by using a metabolomics approach



Exploring genotype-by-environment interactions of chemical composition of raspberry by using a metabolomics approach

Durán-Soria, S., Pott, D.M., Will, F.; Mesa-Marín, J., Lewandowski, M., Celejewska, K., Masny, A., Żurawicz, E., Jennings, N., Sønsteby, A., Krüger E. & Osorio S. (2021). Exploring Genotype-by-Environment Interactions of Chemical Composition of Raspberry by Using a Metabolomics Approach. *Metabolites* 11(8):490.

Promoting the consumption of fruits is a key objective of nutrition policy campaigns due to their associated health benefits. Raspberries are well appreciated for their remarkable flavor and nutritional value attributable to their antioxidant properties. Consequently, one of the objectives of present-day raspberry breeding programs is to improve the fruit's sensory and nutritive characteristics. However, developing new genotypes with enhanced quality traits is a complex task due to the intricate impacts genetic and environmental factors have on these attributes, and the difficulty to phenotype them. We used a multi-platform metabolomic approach to compare flavor- and nutritional-related metabolite profiles of four raspberry cultivars ('Glen Ample', 'Schönemann', 'Tulameen' and 'Veten') grown in different European climates. Although the cultivars appear to be better adapted to high latitudes, for their content in soluble solids and acidity, multivariate statistical analyses allowed us to underscore important genotypic differences based on the profiles of important metabolites. 'Schönemann' and 'Veten' were characterized by high levels of anthocyanins and ellagitannins, respectively, 'Tulameen' by its acidity, and 'Glen Ample' for its content of sucrose and β -ionone, two main flavor contributors. Our results confirmed the value of metabolomic-driven approaches, which may foster the development of cultivars with enhanced health properties and flavor.

Doi: <https://doi.org/10.3390/metabo11080490>



CAPÍTULO 3:

Dissecting the impact of environment, season and genotype on blackcurrant fruit quality traits



Dissecting the impact of environment, season and genotype on blackcurrant fruit quality traits

Pott D.M., Durán-Soria S., Allwood J.W., Pont S., Gordon S.L., Jennings N., Austin C., Stewart D., Brennan R.M., Masny A., Sønsteby A., Krüger E., Jarret D., Vallarino J.G., Usadel B. and Osorio S. (2022). Dissecting the impact of environment, season and genotype on blackcurrant fruit quality traits. *Food Chemistry* 402, 134360.

This work aims to determine the effect of genotype x environment (GxE) interaction that influence blackcurrant (*Ribes nigrum*) fruit quality. We applied metabolomics-driven analysis on fruits from four cultivars grown in contrasting European-locations over two seasons. By integrating metabolomics and sensory analysis, we also defined specific metabolic signatures associated with consumer acceptance. Our results showed that rainfall is a crucial factor associated with accumulation of delphinidin- and cyanidin-3-O-glucoside, the two mayor blackcurrant pigments meanwhile temperature affects the main organic acid levels which can be decisive for fruit taste. Sensorial analysis showed that increases in terpenoid and acetate ester volatiles were strongly associated with higher appreciation score, while proacacipetalin, a cyanogenic-glycoside, was positively associated to bitter taste. Our results pave the way for the selection of high-quality cultivars and suitable production sites for blackcurrant cultivation.

Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134360>



CONCLUSIONES



CONCLUSIONES

1. Los azúcares, por sí mismos o interaccionando con hormonas, actúan como moléculas de señalización regulando la expresión genética y controlando varios procesos de maduración del fruto.
2. La sacarosa tiene un papel importante en la maduración del fruto, acelerando el proceso de maduración, interactuando con la MAD-box de los factores de transcripción RIN y en la síntesis de antocianinas y carotenoides.
3. Las variedades aquí estudiadas de los frutos de frambuesa y grosella negra parecen estar mejor adaptadas a las condiciones climáticas del Norte de Europa, debido a que favorecen la acumulación de SSC, ácidos orgánicos y materia seca. Además, las bajas temperaturas y lluvias durante el verano en estas zonas favorecen la acumulación de Vitamina C.
4. El ambiente ejerce un fuerte impacto en metabolitos primarios y volátiles y nuestros resultados confirman su influencia en el sabor y el aroma del fruto maduro. Como el aumento de β -ionona en fruto de frambuesa debido a la alta radiación, y la mayor abundancia de volátiles en fruto de grosella negra por bajas temperaturas y baja radiación durante el mes previo a la cosecha.
5. El genotipo ha demostrado tener mucho peso en determinados metabolitos primarios y compuestos volátiles relacionados con la calidad de los frutos, como la acumulación de ácido ascórbico, terpenoides y algunos compuestos fenólicos en fruto de grosella negra.
6. Antocianinas y elagitaninos están condicionados principalmente por factores genéticos. Sin embargo, la cantidad y composición de estos metabolitos secundarios también puede alterarse por factores climáticos, por ejemplo, temperatura y radiación altas, distinto fotoperiodo y una mayor frecuencia de precipitaciones o mayor humedad ambiental pueden favorecer la síntesis de antocianinas en el fruto maduro.

7. Nuestros resultados en fruto de grosella negra muestran una correlación positiva entre sabor fermentado y metil-, etil-, prenil-, butyl- y petil-acetatos, así como entre la apreciación general y un regusto dulce con determinados ésteres: metil- y etil-octanoato, metil- y etil- exanoato, metil-butirato, metil-decanoato y etil-butanoato. Estos metabolitos son posibles marcadores de calidad de fruto y pueden ayudar a conseguir variedades mejoradas en cuanto a sabor y aroma.

8. Las herramientas metabolómicas han demostrado ser eficaces para evaluar la calidad de los frutos y su gran potencial para obtener cultivos mejorados.

BIBLIOGRAFÍA DE LA INTRODUCCIÓN



BIBLIOGRAFÍA

- Abreu, I. N., Brennan, R. M., Kanichukattu, E. N., Stewart, D., Hancock, R. D., McDougall, G. J., & Hackett, C. A. (2020). Quantitative trait loci mapping of polyphenol metabolites in blackcurrant (*Ribes nigrum* L.). *Metabolomics*, 16(2). <https://doi.org/10.1007/s11306-020-1647-6>
- Aebi, B., Sturny-Jungo, R., Bernhard, W., Blanke, R., & Hirsch, R. (2002). Quantitation using GC-TOF-MS: example of bromazepam. *Forensic Science Internacional*, 128, 84–89. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(02\)00165-2](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(02)00165-2)
- Affi, S. M., Kabbash, E. M., Berger, R. G., Krings, U., & Esatbeyoglu, T. (2023). Comparative Untargeted Metabolic Profiling of Different Parts of Citrus sinensis Fruits via Liquid Chromatography–Mass Spectrometry Coupled with Multivariate Data Analyses to Unravel Authenticity. *Foods*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/foods12030579>
- Akimov, M. Y., Bessonov, V. V., Kodentsova, V. M., Eller, K. I., Vrzhesinskaya, O. A., Beketova, N. A., Kosheleva, O. V., Bogachuk, M. N., Malinkin, A. D., Makarenko, M. A., Shevyakova, L. V., Perova, I. B., Rylina, E. V., Makarov, V. N., Zhidchina, T. V., Koltsov, V. A., Yushkov, A. N., Novotortsev, A. A., Briksin, D. M., & Khromov, N. V. (2020). Biological value of fruits and berries of Russian production. *Voprosy Pitaniia*, 89(4), 220–232. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10055>
- Alappat, B., & Alappat, J. (2020). Anthocyanin pigments: Beyond aesthetics. *Molecules*, 25(23). <https://doi.org/10.3390/molecules25235500>
- Ali, M. N., & Serçe, S. (2022). Vitamin C and fruit quality consensus in breeding elite European strawberry under multiple interactions of environment. *Molecular Biology Reports*, 49(12), 11573–11586. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07849-5>
- Allegra, A., Gallotta, A., Carimi, F., Mercati, F., Inglese, P., & Martinelli, F. (2018). Metabolic profiling and post-harvest behavior of “dottato” fig (*Ficus carica* L.) fruit covered with an edible coating from *O. ficus-indica*. *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01321>
- Allwood, J. W., Woznicki, T. L., Xu, Y., Foito, A., Aaby, K., Sungurtas, J., Freitag, S., Goodacre, R., Stewart, D., Remberg, S. F., Heide, O. M., & Sønsteby, A. (2019). Application of HPLC–PDA–MS metabolite profiling to investigate the effect of growth temperature and day length on blackcurrant fruit. *Metabolomics*, 15(1). <https://doi.org/10.1007/s11306-018-1462-5>
- Alshehri, Y. M., Alghamdi, T. S., & Aldawsari, F. S. (2020). HS-SPME-GC-MS as an alternative method for NDMA analysis in ranitidine products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 191. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113582>
- Alves, E., Melo, T., Barros, M. P., Domingues, M. M. R., & Domingues, P. (2019). Lipidomic Profiling of the Olive (*Olea europaea* L.) Fruit towards Its Valorisation as a Functional Food: In-depth identification of triacylglycerols and polar lipids in Portuguese olives. *Molecules*, 24(14). <https://doi.org/10.3390/molecules24142555>
- Ambrosino, L., Colantuono, C., Diretto, G., Fiore, A., & Chiusano, M. L. (2020). Bioinformatics resources for plant abiotic stress responses: State of the art and opportunities in the fast evolving-omics era. *Plants*, 9(5). <https://doi.org/10.3390/plants9050591>
- Apra, E., Biasioli, F., & Gasperi, F. (2015). Volatile compounds of raspberry fruit: From analytical methods to biological role and sensory impact. *Molecules*, 20(2), 2445–2474. <https://doi.org/10.3390/molecules20022445>
- Arrigoni, O., & De Tullio, M. C. (2002). Ascorbic acid: much more than just an antioxidant. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1569, 1–9. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(01\)00235-5](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(01)00235-5)
- Augustijn, D., De Groot, H. J. M., & Alia, A. (2021). HR-MAS NMR applications in plant metabolomics. *Molecules*, 26(4). <https://doi.org/10.3390/molecules26040931>
- Ávalos, A., Pérez-Urria E., (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología. Serie Fisiología Vegetal*, 2(3), 119–145. ISSN: 1989-3620.

- Bakir, S., Capanoglu, E., Hall, R. D., & de Vos, R. C. H. (2020). Variation in secondary metabolites in a unique set of tomato accessions collected in Turkey. *Food Chemistry*, 317. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126406>
- Baldi, P., Orsucci, S., Moser, M., Brilli, M., Giongo, L., & Si-Ammour, A. (2018). Gene expression and metabolite accumulation during strawberry (*Fragaria × ananassa*) fruit development and ripening. *Planta*, 248(5), 1143–1157. <https://doi.org/10.1007/s00425-018-2962-2>
- Bapat, V. A., Trivedi, P. K., Ghosh, A., Sane, V. A., Ganapathi, T. R., & Nath, P. (2010). Ripening of fleshy fruit: Molecular insight and the role of ethylene. *Biotechnology Advances*, 28(1), 94–107. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.10.002>
- Basu, A., Schell, J., & Scofield, R. H. (2018). Dietary fruits and arthritis. *Food and Function*, 9(1), 70–77. <https://doi.org/10.1039/c7fo01435j>
- Beale, D. J., Pinu, F. R., Kouremenos, K. A., Poojary, M. M., Narayana, V. K., Boughton, B. A., Kanojia, K., Dayalan, S., Jones, O. A. H., & Dias, D. A. (2018). Review of recent developments in GC–MS approaches to metabolomics-based research. *Metabolomics*, 14(11). <https://doi.org/10.1007/s11306-018-1449-2>
- Beekwilder, J., Hall, R. D., & De Vos, C. H. R. (2005a). Identification and dietary relevance of antioxidants from raspberry. *BioFactors*, 23(4), 197–205. <https://doi.org/10.1002/biof.5520230404>
- Beekwilder, J., Jonker, H., Meesters, P., Hall, R. D., Van Der Meer, I. M., & De Vos, C. H. R. (2005b). Antioxidants in raspberry: On-line analysis links antioxidant activity to a diversity of individual metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(9), 3313–3320. <https://doi.org/10.1021/jf047880b>
- Bejaei M., Cliff M.A., Singh A. (2020). Multiple Correspondence and Hierarchical Cluster Analyses for the Profiling of Fresh Apple Customers Using Data from Two Marketplaces. *Foods*, 9(7):873. <https://doi.org/10.3390/foods9070873>.
- Berli, F. J., Fanzone, M., Piccoli, P., & Bottini, R. (2011). Solar UV-B and ABA are involved in phenol metabolism of *vitis vinifera* L. Increasing biosynthesis of berry skin polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(9), 4874–4884. <https://doi.org/10.1021/jf200040z>
- Bhat, R., Geppert, J., Funken, E., & Stamminger, R. (2015). Consumers Perceptions and Preference for Strawberries—A Case Study from Germany. *International Journal of Fruit Science*, 15(4), 405–424. <https://doi.org/10.1080/15538362.2015.1021408>
- Bilbrey, E. A., Williamson, K., Hatzakis, E., Doud Miller, D., Fresnedo-Ramírez, J., & Cooperstone, J. L. (2021). D R A F T Integrating genomics and multi-platform metabolomics enables metabolite QTL detection in breeding-relevant apple germplasm. *BioRxiv*, 1–12. <https://doi.org/10.1101/2021.02.18.431481>
- Brendel, R., Schwolow, S., Rohn, S., & Weller, P. (2021). Volatilomic Profiling of Citrus Juices by Dual-Detection HS-GC-MS-IMS and Machine Learning - An Alternative Authentication Approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(5), 1727–1738. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c07447>
- Cai, J., Mo, X., Wen, C., Gao, Z., Chen, X., & Xue, C. (2022). *Fvmyb79* positively regulates strawberry fruit softening via transcriptional activation of *fvpme38*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1). <https://doi.org/10.3390/ijms23010101>
- Cao, H., Chen, J., Yue, M., Xu, C., Jian, W., Liu, Y., Song, B., Gao, Y., Cheng, Y., & Li, Z. (2020). Tomato transcriptional repressor MYB70 directly regulates ethylene-dependent fruit ripening. *Plant Journal*, 104(6), 1568–1581. <https://doi.org/10.1111/tbj.15021>
- Cao, J., Jiang, Q., Lin, J., Li, X., Sun, C., & Chen, K. (2015). Physicochemical characterisation of four cherry species (*Prunus spp.*) grown in China. *Food Chemistry*, 173, 855–863. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.094>
- Carbonell-Bejerano, P., Diago, M. P., Martínez-Abaiar, J., Martínez-Zapater, J. M., Tardáguila, J., & Núñez-Olivera, E. (2014). Solar ultraviolet radiation is necessary to enhance grapevine fruit ripening transcriptional and phenolic responses. *BMC Plant Biology*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2229-14-183>
- Changwal, C., Shukla, T., Hussain, Z., Singh, N., Kar, A., Singh, V. P., Abdin, M. Z., & Arora, A. (2021). Regulation of Postharvest Tomato Fruit Ripening by Endogenous Salicylic Acid. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.663943>

- Chen, Z., Jiang, J., Shu, L., Li, X., Huang, J., Qian, B., Wang, X., Li, X., Chen, J., & Xu, H. (2021). Combined transcriptomic and metabolic analyses reveal potential mechanism for fruit development and quality control of Chinese raspberry (*Rubus chingii* Hu). *Plant Cell Reports*, *40*(10), 1923–1946. <https://doi.org/10.1007/s00299-021-02758-6>
- Chizk, T. M., Clark, J. R., Johns, C., Nelson, L., Ashrafi, H., Aryal, R., & Worthington, M. L. (2023). Genome-wide association identifies key loci controlling blackberry postharvest quality. *Frontiers in Plant Science*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1182790>
- Cho, K., Cho, K. S., Sohn, H. B., Ha, I. J., Hong, S. Y., Lee, H., Kim, Y. M., & Nam, M. H. (2016). Network analysis of the metabolome and transcriptome reveals novel regulation of potato pigmentation. *Journal of Experimental Botany*, *67*(5), 1519–1533. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv549>
- Choi, S. R., Lee, M. Y., Reddy, C. K., Lee, S. J., & Lee, C. H. (2021). Evaluation of metabolite profiles of ginseng berry pomace obtained after different pressure treatments and their correlation with the antioxidant activity. *Molecules*, *26*(2). <https://doi.org/10.3390/molecules26020284>
- Ciocan, A. G., Tecuceanu, V., Enache-Preoteasa, C., Mitoi, E. M., Helepciuc, F. E., Dimov, T. V., Simon-Gruita, A., & Cogălniceanu, G. C. (2023). Phenological and Environmental Factors' Impact on Secondary Metabolites in Medicinal Plant *Cotinus coggygia* Scop. *Plants*, *12*(9). <https://doi.org/10.3390/plants12091762>
- Coelho, J., Almeida-Trapp, M., Pimentel, D., Soares, F., Reis, P., Rego, C., Mithöfer, A., & Fortes, A. M. (2019). The study of hormonal metabolism of Trincadeira and Syrah cultivars indicates new roles of salicylic acid, jasmonates, ABA and IAA during grape ripening and upon infection with *Botrytis cinerea*. *Plant Science*, *283*, 266–277. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.01.024>
- Commisso, M., Bianconi, M., Poletti, S., Negri, S., Munari, F., Ceoldo, S., & Guzzo, F. (2021). Metabolomic profiling and antioxidant activity of fruits representing diverse apple and pear cultivars. *Biology*, *10*(5). <https://doi.org/10.3390/biology10050380>
- Cortez, R. E., & Gonzalez de Mejia, E. (2019). Blackcurrants (*Ribes nigrum*): A Review on Chemistry, Processing, and Health Benefits. *Journal of Food Science*, *84*(9), 2387–2401. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14781>
- Cortez, R., Luna-Vital, D. A., Margulis, D., & Gonzalez de Mejia, E. (2017). Natural Pigments: Stabilization Methods of Anthocyanins for Food Applications. *Food Science and Food Safety*, *16*(1), 180–198. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12244>
- Covarrubias, M. P., Lillo-Carmona, V., Melet, L., Benedetto, G., Andrade, D., Maucourt, M., Deborde, C., Fuentealba, C., Moing, A., Valenzuela, M. L., Pedreschi, R., & Almeida, A. M. (2021). Metabolite Fruit Profile Is Altered in Response to Source–Sink Imbalance and Can Be Used as an Early Predictor of Fruit Quality in Nectarine. *Frontiers in Plant Science*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.604133>
- Crespo, P., Giné Bordonaba, J., Terry, L. A., & Carlen, C. (2010). Characterisation of major taste and health-related compounds of four strawberry genotypes grown at different Swiss production sites. *Food Chemistry*, *122*(1), 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.010>
- Cuadros-Inostroza, A., Ruiz-Lara, S., González, E., Eckardt, A., Willmitzer, L., & Peña-Cortés, H. (2016). GC–MS metabolic profiling of Cabernet Sauvignon and Merlot cultivars during grapevine berry development and network analysis reveals a stage- and cultivar-dependent connectivity of primary metabolites. *Metabolomics*, *12*(2), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s11306-015-0927-z>
- Cui, L., Lu, H., & Lee, Y. H. (2018). Challenges and emergent solutions for LC-MS/MS based untargeted metabolomics in diseases. *Mass Spectrometry Reviews*, *37*(6), 772–792. <https://doi.org/10.1002/mas.21562>
- DaMatta, F. M., Grandis, A., Arenque, B. C., & Buckeridge, M. S. (2010). Impacts of climate changes on crop physiology and food quality. *Food Research International*, *43*(7), 1814–1823. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.11.001>
- D'Angelo, M., Zanor, M. I., Sance, M., Cortina, P. R., Boggio, S. B., Asprelli, P., Carrari, F., Santiago, A. N., Asís, R., Peralta, I. E., & Valle, E. M. (2018). Contrasting metabolic profiles of tasty Andean varieties of tomato fruit in comparison with commercial ones. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *98*(11), 4128–4134. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8930>
- de Oliveira, I.R., Crizel, G.R., Severo, J., Renard, C.M.G.C., Chaves, F.C., Rombaldi, C.V. (2016). Preharvest UV-C radiation influences physiological, biochemical, and transcriptional changes in strawberry cv. Camarosa. *Plant Physiology and Biochemistry*, *108*:391-399. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.08.012>

- Dettmer, K., Aronov, P. A., & Hammock, B. D. (2007). Mass Spectrometry-based Metabolomics. *Mass Spectrometry Reviews* 26(1), 51–78. <https://doi.org/10.1002/mas.20108>.
- Dvaranauskaitė, A., Venskutonis, P. R., Raynaud, C., Talou, T., Viškelis, P., & Dambrauskienė, E. (2008). Characterization of steam volatiles in the essential oil of black currant buds and the antioxidant properties of different bud extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(9), 3279–3286. <https://doi.org/10.1021/jf7037168>
- El Hadi, M. A. M., Zhang, F. J., Wu, F. F., Zhou, C. H., & Tao, J. (2013). Advances in fruit aroma volatile research. *Molecules*, 18(7), 8200–8229. <https://doi.org/10.3390/molecules18078200>
- Fan Z., Hasing T., Johnson T.S., Garner D.M., Schwieterman M.L., Barbey C.R., Colquhoun T.A., Sims C.A., Resende M.F.R., Whitaker V.M. (2021). Strawberry sweetness and consumer preference are enhanced by specific volatile compounds. *Horticulture Research*, 8(1):66. <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00502-5>
- Farag, M. A., Ramadan, N. S., Shorbagi, M., Farag, N., & Gad, H. A. (2022). Profiling of Primary Metabolites and Volatiles in Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Seed Kernels and Fruits in the Context of Its Different Cultivars and Soil Type as Analyzed Using Chemometric Tools. *Foods*, 11(9). <https://doi.org/10.3390/foods11091339>
- Fayek, N. M., Farag, M. A., & Saber, F. R. (2021). Metabolome classification via GC/MS and UHPLC/MS of olive fruit varieties grown in Egypt reveal pickling process impact on their composition. *Food Chemistry*, 339. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127861>
- Fei, X., Hu, H., Luo, Y., Shi, Q., & Wei, A. (2022). Widely targeted metabolomic profiling combined with transcriptome analysis provides new insights into amino acid biosynthesis in green and red pepper fruits. *Food Research International*, 160. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111718>
- Fella, P., Kaikiti, K., Stylianou, M., & Agapiou, A. (2022). HS-SPME-GC/MS Analysis for Revealing Carob's Ripening. *Metabolites*, 12(7). <https://doi.org/10.3390/metabo12070656>
- Fenn, M. A., & Giovannoni, J. J. (2021). Phytohormones in fruit development and maturation. *Plant Journal*, 105(2), 446–458. <https://doi.org/10.1111/tbj.15112>
- Füzfai, Z., Katona, Z. F., Kovács, E., & Molnár-Perl, I. (2004). Simultaneous identification and quantification of the sugar, sugar alcohol, and carboxylic acid contents of sour cherry, apple, and berry fruits, as their trimethylsilyl derivatives, by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(25), 7444–7452. <https://doi.org/10.1021/jf040118p>
- Gao, F., Mei, X., Li, Y., Guo, J., & Shen, Y. (2021). Update on the Roles of Polyamines in Fleshy Fruit Ripening, Senescence, and Quality. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.610313>
- Gao, Y., Wei, W., Fan, Z., Zhao, X., Zhang, Y., Jing, Y., Zhu, B., Zhu, H., Shan, W., Chen, J., Grierson, D., Luo, Y., Jemrić, T., Jiang, C. Z., & Fu, D. Q. (2020). Re-evaluation of the nor mutation and the role of the NAC-NOR transcription factor in tomato fruit ripening. *Journal of Experimental Botany*, 71(12), 3560–3574. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa131>
- Gao, Y., Yao, Y., Chen, X., Wu, J., Wu, Q., Liu, S., Guo, A., & Zhang, X. (2022). Metabolomic and transcriptomic analyses reveal the mechanism of sweet-acidic taste formation during pineapple fruit development. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.971506>
- García-Conesa, M. T., Chambers, K., Combet, E., Pinto, P., García-Aloy, M., Andrés-Lacueva, C., Pascual-Teresa, S. De, Mena, P., Ristic, A. K., Hollands, W. J., Kroon, P. A., Rodríguez-Mateos, A., Istas, G., Kontogiorgis, C. A., Rai, D. K., Gibney, E. R., Morand, C., Espín, J. C., & González-Sarrías, A. (2018). Meta-analysis of the effects of foods and derived products containing ellagitannins and anthocyanins on cardiometabolic biomarkers: Analysis of factors influencing variability of the individual responses. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3). <https://doi.org/10.3390/ijms19030694>
- Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J. M., Quiles, J. L., Mezzetti, B., & Battino, M. (2012). The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition*, 28(1), 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2011.08.009>
- Goff, S. A., & Klee, H. J. (2006). Plant volatile compounds: Sensory cues for health and nutritional value? *Science*, 311(5762), 815–819. <https://doi.org/10.1126/science.1112614>
- Goldenberg L., Yaniv Y., Porat R., Carmi N. (2018). Mandarin fruit quality: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(1):18-26. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8495>



- Golovinskaia, O., & Wang, C. K. (2021). Review of functional and pharmacological activities of berries. *Molecules*, 26(13). <https://doi.org/10.3390/molecules26133904>
- Greer, D. H., & Weedon, M. M. (2013). The impact of high temperatures on *vitis vinifera* cv. semillon grapevine performance and berry ripening. *Frontiers in Plant Science*, 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00491>
- Guo, H., Lai, J., Li, C., Zhou, H., Wang, C., Ye, W., Zhong, Y., Zhao, X., Zhang, F., Yang, J., & Wang, S. (2022). Comparative Metabolomics Reveals Key Determinants in the Flavor and Nutritional Value of Coconut by HS-SPME/GC-MS and UHPLC-MS/MS. *Metabolites*, 12(8). <https://doi.org/10.3390/metabo12080691>
- Guo, J., Wang, S., Yu, X., Dong, R., Li, Y., Mei, X., & Shen, Y. (2018). Polyamines regulate strawberry fruit ripening by abscisic acid, auxin, and ethylene. *Plant Physiology*, 177(1), 339–351. <https://doi.org/10.1104/pp.18.00245>
- He, L., Xu, X. Q., Wang, Y., Chen, W. K., Sun, R. Z., Cheng, G., Liu, B., Chen, W., Duan, C. Q., Wang, J., & Pan, Q. H. (2020). Modulation of volatile compound metabolome and transcriptome in grape berries exposed to sunlight under dry-hot climate. *BMC Plant Biology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-020-2268-y>
- Ikram, M. M. M., Mizuno, R., Putri, S. P., & Fukusaki, E. (2021). Comparative metabolomics and sensory evaluation of pineapple (*Ananas comosus*) reveal the importance of ripening stage compared to cultivar. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 132(6), 592–598. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2021.08.008>
- Ikram, M. M. M., Ridwani, S., Putri, S. P., & Fukusaki, E. (2020). GC-MS based metabolite profiling to monitor ripening-specific metabolites in pineapple (*Ananas comosus*). *Metabolites*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/metabo10040134>
- Jamil, N. A. M., Rahmad, N., Rosli, N. H. M., & Al-Obaidi, J. R. (2018). Proteomic and metabolomic study of wax apple (*Syzygium samarangense*) fruit during ripening process. *Electrophoresis*, 39(23), 2954–2964. <https://doi.org/10.1002/elps.201800185>
- Jarret, D. A., Morris, J., Cullen, D. W., Gordon, S. L., Verrall, S. R., Milne, L., Hedley, P. E., Allwood, J. W., Brennan, R. M., & Hancock, R. D. (2018). A transcript and metabolite atlas of blackcurrant fruit development highlights hormonal regulation and reveals the role of key transcription factors. *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01235>
- Jia, H., Wang, Y., Sun, M., Li, B., Han, Y., Zhao, Y., Li, X., Ding, N., Li, C., Ji, W., & Jia, W. (2013). Sucrose functions as a signal involved in the regulation of strawberry fruit development and ripening. *New Phytologist*, 198(2), 453–465. <https://doi.org/10.1111/nph.12176>
- Jiang, W., Li, N., Zhang, D., Meinhardt, L., Cao, B., Li, Y., & Song, L. (2020). Elevated temperature and drought stress significantly affect fruit quality and activity of anthocyanin-related enzymes in jujube (*Ziziphus jujuba* Mill. cv. 'Lingwuchangzao'). *PLoS ONE*, 15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241491>
- Jiang, Y., Qi, Y., Chen, X., Yan, Q., Chen, J., Liu, H., Shi, F., Wen, Y., Cai, C., & Ou, L. (2023). Combined Metabolome and Transcriptome Analyses Unveil the Molecular Mechanisms of Fruit Acidity Variation in Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3). <https://doi.org/10.3390/ijms24031871>
- Jiménez-Herrera, R., Pacheco-López, B., & Peragón, J. (2019). Water stress, irrigation and concentrations of pentacyclic triterpenes and phenols in *Olea europaea* L. Cv. picual olive trees. *Antioxidants*, 8(8). <https://doi.org/10.3390/antiox8080294>
- Jung, K., Fastowski, O., & Engel, K. H. (2016). Occurrence of 4-methoxy-2-methyl-2-butanethiol in blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) berries. *Flavour and Fragrance Journal*, 31(6), 438–441. <https://doi.org/10.1002/ffj.3334>
- Kadomura-Ishikawa, Y., Miyawaki, K., Takahashi, A., Masuda, T., & Noji, S. (2015). Light and abscisic acid independently regulated FaMYB10 in *Fragaria* × *ananassa* fruit. *Planta*, 241(4), 953–965. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2228-6>
- Kapoor, L., Simkin, A. J., George Priya Doss, C., & Siva, R. (2022). Fruit ripening: dynamics and integrated analysis of carotenoids and anthocyanins. *BMC Plant Biology*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-021-03411-w>
- Karagiannis, E., Michailidis, M., Karamanoli, K., Lazaridou, A., Minas, I. S., & Molassiotis, A. (2018). Postharvest responses of sweet cherry fruit and stem tissues revealed by metabolomic profiling. *Plant Physiology and Biochemistry*, 127, 478–484. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.04.029>

- Kaume, L., Howard, L. R., & Devareddy, L. (2012). The blackberry fruit: A review on its composition and chemistry, metabolism and bioavailability, and health benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(23), 5716–5727. <https://doi.org/10.1021/jf203318p>
- Khalil, M. N. A., Fekry, M. I., & Farag, M. A. (2017). Metabolome based volatiles profiling in 13 date palm fruit varieties from Egypt via SPME GC–MS and chemometrics. *Food Chemistry*, *217*, 171–181. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.089>
- Khan, S. U., Saeed, S., Khan, M. H. U., Fan, C., Ahmar, S., Arriagada, O., Shahzad, R., Branca, F., & Mora-Poblete, F. (2021). Advances and challenges for QTL analysis and GWAS in the plant-breeding of high-yielding: A focus on rapeseed. *Biomolecules*, *11*(10). <https://doi.org/10.3390/biom11101516>
- Khanum, Z., Tiznado-Hernández, M. E., Ali, A., Musharraf, S. G., Shakeel, M., & Khan, I. A. (2020). Adaptation mechanism of mango fruit (*Mangifera indica* L. cv. Chaunsa White) to heat suggest modulation in several metabolic pathways. *RSC Advances*, *10*(58), 35531–35544. <https://doi.org/10.1039/d0ra01223h>
- Kim, S. S., Kim, H. J., Park, K. J., Kang, S. B., Park, Y., Han, S. G., Kim, M., Song, Y. H., & Kim, D. S. (2022a). Metabolomic Profiling of *Citrus unshiu* during Different Stages of Fruit Development. *Plants*, *11*(7). <https://doi.org/10.3390/plants11070967>
- Kim, Y. X., Son, S. Y., Lee, S., Lee, Y., Sung, J., & Lee, C. H. (2022b). Effects of limited water supply on metabolite composition in tomato fruits (*Solanum lycopersicum* L.) in two soils with different nutrient conditions. *Frontiers in Plant Science*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.983725>
- Kou, X., Yang, S., Chai, L., Wu, C., Zhou, J., Liu, Y., & Xue, Z. (2021). Abscisic acid and fruit ripening: Multifaceted analysis of the effect of abscisic acid on fleshy fruit ripening. *Scientia Horticulturae*, *281*. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.109999>
- Labadie, M., Vallin, G., Petit, A., Ring, L., Hoffmann, T., Gaston, A., Potier, A., Schwab, W. G., Rothan, C., & Denoyes, B. (2020). Omics Technologies Applied to Agriculture and Food Metabolite Quantitative Trait Loci for flavonoids provide new insights into the genetic architecture of strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruit quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* *68*(25), 6927–6939. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c01855>
- Lai, T., Wang, X., Ye, B., Jin, M., Chen, W., Wang, Y., Zhou, Y., Blanks, A. M., Gu, M., Zhang, P., Zhang, X., Li, C., Wang, H., Liu, Y., Gallusci, P., Tör, M., & Hong, Y. (2020). Molecular and functional characterization of the SBP-box transcription factor SPL-CNR in tomato fruit ripening and cell death. *Journal of Experimental Botany*, *71*(10), 2995–3011. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa067>
- Li, B. (2020). Identification of genes conferring plant salt tolerance using GWAS: current success and perspectives Running head GWAS to identify genes regulating plant salt tolerance. *Plant and Cell Physiology*, *61*(8), 1419–1426. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcaa073/5850412>
- Li, B. J., Grierson, D., Shi, Y., & Chen, K. S. (2022). Roles of abscisic acid in regulating ripening and quality of strawberry, a model non-climacteric fruit. *Horticulture Research*, *9*. <https://doi.org/10.1093/hr/uhac089>
- Li, C., Xin, M., Li, L., He, X., Yi, P., Tang, Y., Li, J., Zheng, F., Liu, G., Sheng, J., Li, Z., & sun, J. (2021c). Characterization of the aromatic profile of purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) during ripening by HS-SPME-GC/MS and RNA sequencing. *Food Chemistry*, *355*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129685>
- Li, H., Ma, C., Li, S., Wang, H., Fang, L., Feng, J., Wang, Y., Li, Z., Cai, Q., Geng, X., & Liu, Z. (2023b). Eight Typical Aroma Compounds of ‘Panguxiang’ Pear during Development and Storage Identified via Metabolomic Profiling. *Life*, *13*(7). <https://doi.org/10.3390/life13071504>
- Li, J., Wang, Z., Crane, J., & Wang, Y. (2023a). Integration of Volatilomics and Metabolomics Unveils Key Flavor-Related Biological Pathways in Different Carambola Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c02015>
- Li, S., Chen, K., & Grierson, D. (2021b). Molecular and hormonal mechanisms regulating fleshy fruit ripening. *Cells*, *10*(5). <https://doi.org/10.3390/cells10051136>
- Li, T., Xu, Y., Zhang, L., Ji, Y., Tan, D., Yuan, H., & Wang, A. (2017). The jasmonate-activated transcription factor MdMYC2 regulates ETHYLENE RESPONSE FACTOR and ethylene biosynthetic genes to promote ethylene biosynthesis during apple fruit ripening. *Plant Cell*, *29*(6), 1316–1334. <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00349>

- Li, T., Yamane, H., & Tao, R. (2021a). Preharvest long-term exposure to UV-B radiation promotes fruit ripening and modifies stage-specific anthocyanin metabolism in highbush blueberry. *Horticulture Research*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00503-4>
- Li, Y., Lu, Y., Li, L., Chu, Z., Zhang, H., Li, H., Fernie, A. R., & Ouyang, B. (2019). Impairment of hormone pathways results in a general disturbance of fruit primary metabolism in tomato. *Food Chemistry*, 274, 170–179. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.026>
- Liao, X., Li, M., Liu, B., Yan, M., Yu, X., Zi, H., Liu, R., & Yamamuro, C. (2018a). Interlinked regulatory loops of ABA catabolism and biosynthesis coordinate fruit growth and ripening in woodland strawberry. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115(49), 11542–11550. <https://doi.org/10.1073/pnas.1812575115>
- Lieb, V. M., Esquivel, P., Cubero Castillo, E., Carle, R., & Steingass, C. B. (2018). GC–MS profiling, descriptive sensory analysis, and consumer acceptance of Costa Rican papaya (*Carica papaya* L.) fruit purees. *Food Chemistry*, 248, 238–246. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.027>
- Lioupi, A., Sampsonidis, I., Virgiliou, C., Papoti, V. T., Zinoviadou, K. G., Spyros, A., & Theodoridis, G. (2022). Optimisation of the HS-SPME/GC-MS Approach by Design of Experiments Combined with Chemometrics for the Classification of Cretan Virgin Olive Oils. *Metabolites*, 12(2). <https://doi.org/10.3390/metabo12020114>
- Liu, G. S., Li, H. L., Grierson, D., & Fu, D. Q. (2022). NAC Transcription Factor Family Regulation of Fruit Ripening and Quality: A Review. *Cells* 11(3). <https://doi.org/10.3390/cells11030525>
- Liu, H., Meng, F., Miao, H., Chen, S., Yin, T., Hu, S., Shao, Z., Liu, Y., Gao, L., Zhu, C., Zhang, B., & Wang, Q. (2018). Effects of postharvest methyl jasmonate treatment on main health-promoting components and volatile organic compounds in cherry tomato fruits. *Food Chemistry*, 263, 194–200. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.124>
- Liu, L., Liu, H., Li, S., Zhang, X., Zhang, M., Zhu, N., Dufresne, C. P., Chen, S., & Wang, Q. (2016). Regulation of BZR1 in fruit ripening revealed by iTRAQ proteomics analysis. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep33635>
- Liu, M., Pirrello, J., Chervin, C., Roustan, J. P., & Bouzayen, M. (2015). Ethylene control of fruit ripening: Revisiting the complex network of transcriptional regulation. *Plant Physiology*, 169(4), 2380–2390. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01361>
- Liu, Y. H., Offler, C. E., & Ruan, Y. L. (2013). Regulation of fruit and seed response to heat and drought by sugars as nutrients and signals. *Frontiers in Plant Science*, 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00282>
- Luo, Y., Ge, C., Ling, Y., Mo, F., Yang, M., Jiang, L., Chen, Q., Lin, Y., Sun, B., Zhang, Y., Wang, Y., Li, M., Wang, X., & Tang, H. (2020). ABA and sucrose co-regulate strawberry fruit ripening and show inhibition of glycolysis. *Molecular Genetics and Genomics*, 295(2), 421–438. <https://doi.org/10.1007/s00438-019-01629-w>
- Maluleke, M. K. (2022). Metabolite profile of African horned cucumber (*Cucumis metuliferus* E. May. Ex Naudin) fruit grown under differing environmental conditions. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-07769-1>
- Manganaris, G. A., Goulas, V., Vicente, A. R., & Terry, L. A. (2014). Berry antioxidants: Small fruits providing large benefits. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(5), 825–833. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6432>
- Manning, K., Tör, M., Poole, M., Hong, Y., Thompson, A. J., King, G. J., Giovannoni, J. J., & Seymour, G. B. (2006). A naturally occurring epigenetic mutation in a gene encoding an SBP-box transcription factor inhibits tomato fruit ripening. *Nature Genetics*, 38(8), 948–952. <https://doi.org/10.1038/ng1841>
- Mao, W., Han, Y., Chen, Y., Sun, M., Feng, Q., Li, L., Liu, L., Zhang, K., Wei, L., Han, Z., & Li, B. (2022). Low temperature inhibits anthocyanin accumulation in strawberry fruit by activating FvMAPK3-induced phosphorylation of FvMYB10 and degradation of Chalcone Synthase 1. *Plant Cell*, 34(4), 1226–1249. <https://doi.org/10.1093/plcell/koac006>
- Massa, G. D., Chase, E., Santini, J. B., & Mitchell, C. A. (2015). Temperature affects long-term productivity and quality attributes of day-neutral strawberry for a space life-support system. *Life Sciences in Space Research*, 5, 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.lssr.2015.04.003>
- Mattioli, R., Francioso, A., Mosca, L., & Silva, P. (2020). Anthocyanins: A Comprehensive Review of Their Chemical Properties and Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Diseases. *Molecules*, 25 (17). <https://doi.org/10.3390/molecules25173809>



- Mauxion, J. P., Chevalier, C., & Gonzalez, N. (2021). Complex cellular and molecular events determining fruit size. *Trends in Plant Science*, 26(10), 1023–1038. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.05.008>
- Mayuoni-Kirshinbaum, L., & Porat, R. (2014). The flavor of pomegranate fruit: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(1), 21–27. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6311>
- Meng, Q., Manghwar, H., & Hu, W. (2022). Study on Supergenus *Rubus* L.: Edible, Medicinal, and Phylogenetic Characterization. *Plants*, 11(9). <https://doi.org/10.3390/plants11091211>
- Mennella, J. A., Colquhoun, T. A., Bobowski, N. K., Olmstead, J. W., Bartoshuk, L., & Clark, D. (2017). Farm to Sensory Lab: Taste of Blueberry Fruit by Children and Adults. *Journal of Food Science*, 82(7), 1713–1719. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13760>
- Merchante, C., Vallarino, J. G., Osorio, S., Aragón, I., Villarreal, N., Ariza, M. T., Martínez, G. A., Medina-Escobar, N., Civello, M. P., Fernie, A. R., Botella, M. A., & Valpuesta, V. (2013). Ethylene is involved in strawberry fruit ripening in an organ-specific manner. *Journal of Experimental Botany*, 64(14), 4421–4439. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert257>
- Metrani, R., Singh, J., Acharya, P., Jayaprakasha, G. K., & Patil, B. S. (2020). Comparative metabolomics profiling of polyphenols, nutrients and antioxidant activities of two red onion (*Allium cepa* L.) cultivars. *Plants*, 9(9), 1–18. <https://doi.org/10.3390/plants9091077>
- Michailidis, M., Karagiannis, E., Tanou, G., Sarrou, E., Karamanoli, K., Lazaridou, A., Martens, S., & Molassiotis, A. (2020). Sweet cherry fruit cracking: Follow-up testing methods and cultivar-metabolic screening. *Plant Methods*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00593-6>
- Mihaylova, D., Popova, A., & Dincheva, I. (2022). Pattern Recognition of Varieties of Peach Fruit and Pulp from Their Volatile Components and Metabolic Profile Using HS-SPME-GC/MS Combined with Multivariable Statistical Analysis. *Plants*, 11(23). <https://doi.org/10.3390/plants11233219>
- Mikulic-Petkovsek, M., Schmitzer, V., Slatnar, A., Stampar, F., & Veberic, R. (2012). Composition of Sugars, Organic Acids, and Total Phenolics in 25 Wild or Cultivated Berry Species. *Journal of Food Science*, 77(10). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02896.x>
- Milivojevic, J., Slatnar, A., Mikulic-Petkovsek, M., Stampar, F., Nikolic, M., & Veberic, R. (2012). The influence of early yield on the accumulation of major taste and health-related compounds in black and red currant cultivars (*Ribes spp.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(10), 2682–2691. <https://doi.org/10.1021/jf204627m>
- Min, K., Yi, G., Lee, J. G., Kim, H. S., Hong, Y., Choi, J. H., Lim, S., & Lee, E. J. (2020). Comparative transcriptome and metabolome analyses of two strawberry cultivars with different storability. *PLoS ONE*, 15(12 December). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242556>
- Mishra, S., Ankit, Sharma, R., Gogna, N., & Dorai, K. (2021). NMR-based metabolomic profiling of the differential concentration of phytochemical compounds in pericarp, skin and seeds of *Momordica charantia* (bitter melon). *Natural Product Research*, 36(1), 390–395. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1762190>
- Mizrahi, Y. (1982). Effect of Salinity on Tomato Fruit Ripening. *Plant Physiology*, 69(4), 966–970. <https://doi.org/10.1104/pp.69.4.966>
- Mo, A., Xu, T., Bai, Q., Shen, Y., Gao, F., & Guo, J. (2020). FaPAO5 regulates Spm/Spd levels as a signaling during strawberry fruit ripening. *Plant Direct*, 4(5). <https://doi.org/10.1002/pld3.217>
- Morales, C. G. (2009). Frambueso (*Rubus idaeus* L.), morfología y clasificación. *Informativo INIA Raihuén*, 34. <https://hdl.handle.net/20.500.14001/4310>
- Muto, A., Müller, C. T., Bruno, L., McGregor, L., Ferrante, A., Chiappetta, A. A. C., Bitonti, M. B., Rogers, H. J., & Spadafora, N. D. (2020). Fruit volatiles profiling through GC × GC-ToF-MS and gene expression analyses reveal differences amongst peach cultivars in their response to cold storage. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75322-z>
- Nascimento, A. C., Acunha, T. dos S., Perin, E. C., Rombaldi, C. V., Galli, V., & Chaves, F. C. (2019a). Untargeted metabolomics of strawberry (*Fragaria x ananassa* 'Camarosa') fruit from plants grown under osmotic stress conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(15), 6973–6980. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9986>

- Nascimento, T. P., Castro-Alves, V. C., Castelan, F. P., Calhau, M. F. N. S., Saraiva, L. A., Agopian, R. G., & Cordenunsi-Lysenko, B. R. (2019b). Metabolomic profiling reveals that natural biodiversity surrounding a banana crop may positively influence the nutritional/sensorial profile of ripe fruits. *Food Research International*, 124, 165–174. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.050>
- Nicholson, J. K., Wilson, I. D., & Lindon, J. C. (2011). Pharmacometabonomics as an effector for personalized medicine. *Pharmacogenomics*, 12(1), 103–111. <https://doi.org/10.2217/pgs.10.157>
- Oh, H.E., Yoon, A., Park, Y.G. (2021). Red Light Enhances the Antioxidant Properties and Growth of *Rubus hongnoensis*. *Plants (Basel)*, 10(12):2589. <https://doi.org/10.3390/plants10122589>
- Oikawa, A., Otsuka, T., Nakabayashi, R., Jikumaru, Y., Isuzugawa, K., Murayama, H., Saito, K., & Shiratake, K. (2015). Metabolic profiling of developing pear fruits reveals dynamic variation in primary and secondary metabolites, including plant hormones. *PLoS ONE*, 10(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131408>
- Olennikov, D. N., Vasilieva, A. G., & Chirikova, N. K. (2020). *Fragaria viridis* fruit metabolites: Variation of LC-MS profile and antioxidant potential during ripening and storage. *Pharmaceuticals*, 13(9), 1–25. <https://doi.org/10.3390/ph13090262>
- Otify, A. M., Ibrahim, R. M., Abib, B., Laub, A., Wessjohann, L. A., Jiang, Y., & Farag, M. A. (2023). Unveiling metabolome heterogeneity and new chemicals in 7 tomato varieties via multiplex approach of UHPLC-MS/MS, GC-MS, and UV-Vis in relation to antioxidant effects as analyzed using molecular networking and chemometrics. *Food Chemistry*, 417. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135866>
- Padayatty, S. J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J. H., Chen, S., Corpe, C., Levine, M., Dutta, A., & Dutta, S. K. (2003). Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, 22(1), 18–35. <https://doi.org/10.1080/07315724.2003.10719272>
- Pandey, M. K., Roorkiwal, M., Singh, V. K., Ramalingam, A., Kudapa, H., Thudi, M., Chitikineni, A., Rathore, A., & Varshney, R. K. (2016). Emerging genomic tools for legume breeding: Current status and future prospects. *Frontiers in Plant Science* 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00455>
- Papadimitropoulos, M. E. P., Vasilopoulou, C. G., Maga-Nteve, C., & Klapa, M. I. (2018). “Untargeted GC-MS metabolomics” in *Methods in Molecular Biology*, 1738, 133–147. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7643-0_9
- Patel, A. V., Rojas-Vera, J., & Dacke, C. G. (2004). Therapeutic Constituents and Actions of *Rubus* Species. *Current Medicinal Chemistry* 11, 1501–1512. <https://doi.org/10.2174/0929867043365143>
- Piña-Contreras, N., Martínez-Moreno, A. G., Ramírez-Anaya, J. D. P., Espinoza-Gallardo, A. C., & Valdés, E. H. M. (2022). Raspberry (*Rubus idaeus* L.), a Promising Alternative in the Treatment of Hyperglycemia and Dyslipidemias. *Journal of Medicinal Food*, 25(2), 121–129. <https://doi.org/10.1089/jmf.2021.0046>
- Ponder, A., Hallmann, E., Kwolek, M., Średnicka-Tober, D., & Kazimierczak, R. (2021). Genetic differentiation in anthocyanin content among berry fruits. *Current Issues in Molecular Biology*, 43(1), 36–51. <https://doi.org/10.3390/cimb43010004>
- Pott, D. M., Durán-Soria, S., Osorio, S., & Vallarino, J. G. (2021b). Combining metabolomic and transcriptomic approaches to assess and improve crop quality traits. *CABI Agriculture and Bioscience*, 2(1). <https://doi.org/10.1186/s43170-020-00021-8>
- Pott, D. M., Vallarino, J. G., Cruz-Rus, E., Willmitzer, L., Sánchez-Sevilla, J. F., Amaya, I., & Osorio, S. (2020). Genetic analysis of phenylpropanoids and antioxidant capacity in strawberry fruit reveals mQTL hotspots and candidate genes. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76946-x>
- Pott, D. M., Vallarino, J. G., & Osorio, S. (2021a). Profiling volatile compounds in blackcurrant fruit using headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Visualized Experiments*, 2021(172). <https://doi.org/10.3791/62421>
- Pott, D. M., Vallarino, J. G., Osorio, S., & Amaya, I. (2018). “Fruit Ripening and QTL for Fruit Quality in the Octoploid Strawberry” in *The Genomes of Rosaceous Berries and Their Wild*, 95–113. https://doi.org/10.1007/978-3-319-76020-9_8
- Prasanna, V., Prabha, T. N., & Tharanathan, R. N. (2007). Fruit ripening phenomena-an overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(1), 1–19. <https://doi.org/10.1080/10408390600976841>



- Ramadan, N. S., Wessjohann, L. A., Mocan, A., Vodnar, D. C., ElSayed, N. H., ElToumy, S. A., Mohamed, D. A., Aziz, Z. A., Ehrlich, A., & Farag, M. A. (2020). Nutrient and sensory metabolites profiling of Averrhoa carambola L. (starfruit) in the context of its origin and ripening stage by GC/MS and chemometric analysis. *Molecules*, 25(10). <https://doi.org/10.3390/molecules25102423>
- Rauf, A., Imran, M., Abu-Izneid, T., lahtisham-Ul-Haq, Patel, S., Pan, X., Naz, S., Sanches Silva, A., Saeed, F., & Rasul Suleria, H. A. (2019). Proanthocyanidins: A comprehensive review. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 116. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108999>
- Remberg, S.F., Sønsteby, A., Aaby, K., Heide, O.M. (2010). Influence of postflowering temperature on fruit size and chemical composition of Glen Ample raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 58(16):9120-8. <https://doi.org/10.1021/jf101736q>
- Ren, J., Yang, L., Cao, R., Wang, Y., Zhang, C., Yu, X., Meng, W., & Ye, X. (2023). Integrated Metabolome and Transcriptome Analysis Provides New Insights into the Glossy Graft Cucumber Fruit (*Cucumis sativus* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 24(15), 12147. <https://doi.org/10.3390/ijms241512147>
- Ritala, A., Heiniö, R. L., Häkkinen, S. T., Lille, M., Hyytiäinen-Pabst, T., & Rischer, H. (2022). Tailoring sensory properties of plant cell cultures for food use. *Food Research International*, 157. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111440>
- Rodrigues, A. M., Jorge, T., Osorio, S., Pott, D. M., Lidon, F. C., Damatta, F. M., Marques, I., Ribeiro-Barros, A. I., Ramalho, J. C., & António, C. (2021). Primary metabolite profile changes in *coffea* spp. promoted by single and combined exposure to drought and elevated CO₂ concentration. *Metabolites*, 11(7). <https://doi.org/10.3390/metabo11070427>
- Romero, H., Pott, D. M., Vallarino, J. G., & Osorio, S. (2021). Metabolomics-based evaluation of crop quality changes as a consequence of climate change. *Metabolites*, 11(7). <https://doi.org/10.3390/metabo11070461>
- Romo-Pérez, M. L., Weinert, C. H., Häußler, M., Egert, B., Frechen, M. A., Trierweiler, B., Kulling, S. E., & Zörb, C. (2020). Metabolite profiling of onion landraces and the cold storage effect. *Plant Physiology and Biochemistry*, 146, 428–437. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.11.007>
- Rook, F., Hadingham, S. A., Li, Y., & Bevan, M. W. (2006). Sugar and ABA response pathways and the control of gene expression. *Plant, Cell and Environment*, 29(3), 426–434. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01477.x>
- Samkumar, A., Karppinen, K., Dhakal, B., Martinussen, I., & Jaakola, L. (2022). Insights into sugar metabolism during bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruit development. *Physiologia Plantarum*, 174(2). <https://doi.org/10.1111/ppl.13657>
- Sánchez-Gómez, C., Posé, D., & Martín-Pizarro, C. (2022). Insights into transcription factors controlling strawberry fruit development and ripening. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1022369>
- Sarıdaş, M. A. (2021). Seasonal variation of strawberry fruit quality in widely grown cultivars under Mediterranean climate condition. *Journal of Food Composition and Analysis*, 97. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103733>
- Sexton, R., Palmer, J. M., Whyte, N. A., & Littlejohns, S. (1997). Cellulase, Fruit Softening and Abscission in Red Raspberry *Rubus idaeus* L. cv Glen Clova. *Annals of Botany*, 80.
- Seymour, G. B., Ostergaard, L., Chapman, N. H., Knapp, S., & Martin, C. (2013). Fruit development and ripening. *Annual Review of Plant Biology*, 64, 219–241. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120057>
- Sharifi-Rad, J., Quispe, C., Castillo, C. M. S., Caroca, R., Lazo-Vélez, M. A., Antonyak, H., Polishchuk, A., Lysiuk, R., Oliinyk, P., De Masi, L., Bontempo, P., Martorell, M., Daştan, S. D., Rigano, D., Wink, M., & Cho, W. C. (2022). Ellagic Acid: A Review on Its Natural Sources, Chemical Stability, and Therapeutic Potential. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/3848084>
- Shen, Y., Zhou, G., Liang, C., & Tian, Z. (2022). Omics-based interdisciplinarity is accelerating plant breeding. *Current Opinion in Plant Biology*, 66. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2021.102167>
- Shi, Z., Wei, F., Wan, R., Li, Y., Wang, Y., An, W., Qin, K., Dai, G., Cao, Y., & Feng, J. (2019). Impact of Nitrogen Fertilizer Levels on Metabolite Profiling of the *Lycium barbarum* L. Fruit. *Molecules*, 24(21). <https://doi.org/10.3390/molecules24213879>
- Shimizu, T., Watanabe, M., Fernie, A. R., & Tohge, T. (2018). Targeted LC-MS analysis for plant secondary metabolites. *Methods in Molecular Biology*, 1778, 171–181. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7819-9_12

- Šimerdová, B., Bobříková, M., Lhotská, I., Kaplan, J., Křenová, A., & Šatínský, D. (2021). Evaluation of anthocyanin profiles in various blackcurrant cultivars over a three-year period using a fast hplc-dad method. *Foods*, *10*(8). <https://doi.org/10.3390/foods10081745>
- Simpson, C. G., Cullen, D. W., Hackett, C. A., Smith, K., Hallett, P. D., McNicol, J., Woodhead, M., & Graham, J. (2017). Mapping and expression of genes associated with raspberry fruit ripening and softening. *Theoretical and Applied Genetics*, *130*(3), 557–572. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2835-7>
- Singh, S., & Sharma, P. C. (2022). Gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) profiling reveals substantial metabolome diversity in seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries originating from different geographical regions in the Indian Himalayas. *Phytochemical Analysis*, *33*(2), 214–225. <https://doi.org/10.1002/pca.3081>
- Skrovankova, S., Sumczynski, D., Mlcek, J., Jurikova, T., & Sochor, J. (2015). Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. *International Journal of Molecular Sciences*, *16*(10), 24673–24706. <https://doi.org/10.3390/ijms161024673>
- Srivastava, M. K., & Dwivedi, U. N. (2000). Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. *Plant Science*, *158*, 87–96. [https://doi.org/10.1016/s0168-9452\(00\)00304-6](https://doi.org/10.1016/s0168-9452(00)00304-6)
- Sun, Q., Wang, N., Xu, W., & Zhou, H. (2021a). Genus *Ribes* Linn. (Grossulariaceae): A comprehensive review of traditional uses, phytochemistry, pharmacology and clinical applications. *Journal of Ethnopharmacology*, *276*. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114166>
- Sun, S., Fang, J., Lin, M., Hu, C., Qi, X., Chen, J., Zhong, Y., Muhammad, A., Li, Z., & Li, Y. (2021b). Comparative Metabolomic and Transcriptomic Studies Reveal Key Metabolism Pathways Contributing to Freezing Tolerance Under Cold Stress in Kiwifruit. *Frontiers in Plant Science*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.628969>
- Tanksley, S. D. (1993). MAPPING POLYGENES. *Annual Review of Genetics*, *27*, 205–233. <https://doi.org/10.1146/annurev.ge.27.120193.001225>
- Tao, Y., Bao, J., Zhu, F., Pan, M., Liu, Q., & Wang, P. (2023). Ethnopharmacology of *Rubus idaeus* Linnaeus: A critical review on ethnobotany, processing methods, phytochemicals, pharmacology and quality control. *Journal of Ethnopharmacology*, *302*. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115870>
- Tassoni, A., Watkins, C. B., & Davies, P. J. (2006). Inhibition of the ethylene response by 1-MCP in tomato suggests that polyamines are not involved in delaying ripening, but may moderate the rate of ripening or over-ripening. *Journal of Experimental Botany*, *57*(12), 3313–3325. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl092>
- Tsaniklidis, G., Kotsiras, A., Tsafouros, A., Roussos, P. A., Aivalakis, G., Katinakis, P., & Delis, C. (2016). Spatial and temporal distribution of genes involved in polyamine metabolism during tomato fruit development. *Plant Physiology and Biochemistry*, *100*, 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.01.001>
- Vallarino, J. G., Hong, J., Wang, S., Wang, X., Sade, N., Orf, I., Zhang, D., Shi, J., Shen, S., Cuadros-Inostroza, Á., Xu, Q., Luo, J., Fernie, A. R., & Brotman, Y. (2023). Limitations and advantages of using metabolite-based genome-wide association studies: Focus on fruit quality traits. *Plant Science*, *333*. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2023.111748>
- Vallarino, J. G., Merchante, C., Sánchez-Sevilla, J. F., de Luis Balaguer, M. A., Pott, D. M., Ariza, M. T., Casañal, A., Posé, D., Vioque, A., Amaya, I., Willmitzer, L., Solano, R., Sozzani, R., Fernie, A. R., Botella, M. A., Giovannoni, J. J., Valpuesta, V., & Osorio, S. (2020). Characterizing the involvement of *FaMADS9* in the regulation of strawberry fruit receptacle development. *Plant Biotechnology Journal*, *18*(4), 929–943. <https://doi.org/10.1111/pbi.13257>
- Vallarino, J. G., Osorio, S., Bombarely, A., Casañal, A., Cruz-Rus, E., Sánchez-Sevilla, J. F., Amaya, I., Givalisco, P., Fernie, A. R., Botella, M. A., & Valpuesta, V. (2015). Central role of *FaGAMYB* in the transition of the strawberry receptacle from development to ripening. *New Phytologist*, *208*(2), 482–496. <https://doi.org/10.1111/nph.13463>
- Vallarino, J. G., Pott, D. M., Cruz-Rus, E., Miranda, L., Medina-Minguez, J. J., Valpuesta, V., Fernie, A. R., Sánchez-Sevilla, J. F., Osorio, S., & Amaya, I. (2019). Identification of quantitative trait loci and candidate genes for primary metabolite content in strawberry fruit. *Horticulture Research*, *6*(1). <https://doi.org/10.1038/s41438-018-0077-3>
- VanderWeide, J., Medina-Meza, I. G., Frioni, T., Sivilotti, P., Falchi, R., & Sabbatini, P. (2018). Enhancement of Fruit Technological Maturity and Alteration of the Flavonoid Metabolomic Profile in Merlot (*Vitis vinifera* L.)

by Early Mechanical Leaf Removal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(37), 9839–9849. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02709>

- Varming, C., Petersen, M. A., & Poll, L. (2004). Comparison of Isolation Methods for the Determination of Important Aroma Compounds in Black Currant (*Ribes nigrum* L.) Juice, Using Nasal Impact Frequency Profiling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(6), 1647–1652. <https://doi.org/10.1021/jf035133t>
- Villano, C., Demurtas, O. C., Esposito, S., Granell, A., Rambla, J. L., Piombino, P., Frusciante, L., Carputo, D., Diretto, G., & Aversano, R. (2023). Integrative analysis of metabolome and transcriptome profiles to highlight aroma determinants in Aglianico and Falanghina grape berries. *BMC Plant Biology*, 23(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04251-6>
- Vitalini, S., Cas, M. D., Rubino, F. M., Vigentini, I., Foschino, R., Iriti, M., & Paroni, R. (2020). LC-MS/MS-based profiling of tryptophan-related metabolites in healthy plant foods. *Molecules*, 25(2). <https://doi.org/10.3390/molecules25020311>
- Wang, K., Yin, X. R., Zhang, B., Grierson, D., Xu, C. J., & Chen, K. S. (2017). Transcriptomic and metabolic analyses provide new insights into chilling injury in peach fruit. *Plant Cell and Environment*, 40(8), 1531–1551. <https://doi.org/10.1111/pce.12951>
- Wang, X., Wu, L., Qiu, J., Qian, Y., & Wang, M. (2023). Comparative Metabolomic Analysis of the Nutritional Aspects from Ten Cultivars of the Strawberry Fruit. *Foods*, 12(6). <https://doi.org/10.3390/foods12061153>
- Wang, Y., Liang, X., Li, Y., Fan, Y., Li, Y., Cao, Y., An, W., Shi, Z., Zhao, J., & Guo, S. (2020). Changes in metabolome and nutritional quality of *Lycium barbarum* fruits from three typical growing areas of China as revealed by widely targeted metabolomics. *Metabolites*, 10(2). <https://doi.org/10.3390/metabo10020046>
- Wang, Y., Xiao, Y., Sun, Y., Zhang, X., Du, B., Turupu, M., Yao, Q., Gai, S., Tong, S., Huang, J., Li, T. (2023). Two B-box proteins, PavBBX6/9, positively regulate light-induced anthocyanin accumulation in sweet cherry. *Plant Physiology*, 192(3):2030-2048. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiad137>
- Wang, Z., Wang, S., Liao, P., Chen, L., Sun, J., Sun, B., Zhao, D., Wang, B., & Li, H. (2022). HS-SPME Combined with GC-MS/O to Analyze the Flavor of Strong Aroma Baijiu Daqu. *Foods*, 11(1). <https://doi.org/10.3390/foods11010116>
- Weber, N., Zupanc, V., Jakopic, J., Veberic, R., Mikulic-Petkovsek, M., & Stampar, F. (2017). Influence of deficit irrigation on strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) fruit quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(3), 849–857. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7806>
- Weckwerth, W., & Fiehn, O. (2002). Can we discover novel pathways using metabolomic analysis? *Current Opinion in Biotechnology*, 13, 156–160. [https://doi.org/10.1016/s0958-1669\(02\)00299-9](https://doi.org/10.1016/s0958-1669(02)00299-9)
- Wei, W., Li, S., Li, P., Yu, K., Fan, G., Wang, Y., Zhao, F., Zhang, X., Feng, X., Shi, G., Zhang, W., Song, G., Dan, W., Wang, F., Zhang, Y., Li, X., Wang, D., Zhang, W., Pei, J., ... Zhao, Z. (2023). QTL analysis of important agronomic traits and metabolites in foxtail millet (*Setaria italica*) by RIL population and widely targeted metabolome. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1035906>
- Woznicki, T. L., Sønsteby, A., Aaby, K., Martinsen, B. K., Heide, O. M., Wold, A. B., & Remberg, S. F. (2017). Ascorbate pool, sugars and organic acids in black currant (*Ribes nigrum* L.) berries are strongly influenced by genotype and post-flowering temperature. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(4), 1302–1309. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7864>
- Wu, Y., Xu, J., He, Y., Shi, M., Han, X., Li, W., Zhang, X., & Wen, X. (2019). Metabolic profiling of pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) during fruit development and maturation. *Molecules*, 24(6). <https://doi.org/10.3390/molecules24061114>
- Xie, Y. G., Ma, Y. Y., Bi, P. P., Wei, W., Liu, J., Hu, Y., Gou, Y. J., Zhu, D., Wen, Y. Q., & Feng, J. Y. (2020). Transcription factor *FvTCP9* promotes strawberry fruit ripening by regulating the biosynthesis of abscisic acid and anthocyanins. *Plant Physiology and Biochemistry*, 146, 374–383. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.11.004>
- Xin, R., Liu, X., Wei, C., Yang, C., Liu, H., Cao, X., Wu, D., Zhang, B., & Chen, K. (2018). E-Nose and GC-MS reveal a difference in the volatile profiles of white- and red-fleshed peach fruit. *Sensors*, 18(3). <https://doi.org/10.3390/s18030765>
- Xu, J., Yan, J., Li, W., Wang, Q., Wang, C., Guo, J., Geng, D., Guan, Q., & Ma, F. (2020a). Integrative analyses of widely targeted metabolic profiling and transcriptome data reveals molecular insight into metabolomic

variations during apple (*Malus domestica*) fruit development and ripening. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(13), 1–23. <https://doi.org/10.3390/ijms21134797>

- Xu, M., Shen, C., Zheng, H., Xu, Y., Xue, C., Zhu, B., & Hu, J. (2020b). Metabolomic analysis of acerola cherry (*Malpighia emarginata*) fruit during ripening development via UPLC-Q-TOF and contribution to the antioxidant activity. *Food Research International*, 130. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108915>
- Xu, Y., Zhu, C., Xu, C., Sun, J., Grierson, D., Zhang, B., & Chen, K. (2019). Integration of metabolite profiling and transcriptome analysis reveals genes related to volatile terpenoid metabolism in finger citron (*C. Medica* var. *Sarcodactylis*). *Molecules*, 24(14). <https://doi.org/10.3390/molecules24142564>
- Yamada H., Wakamori S., Hirokane T., Ikeuchi K., Matsumoto S. (2018). Structural Revisions in Natural Ellagitannins. *Molecules*, 23(8):1901. <https://doi.org/10.3390/molecules23081901>
- Yan, X. ting, Zhang, Y., Zhou, Y., Li, G. hui, & Feng, X. song. (2022). Technical Overview of Orbitrap High Resolution Mass Spectrometry and Its Application to the Detection of Small Molecules in Food (Update Since 2012). *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 52(3), 593–626. <https://doi.org/10.1080/10408347.2020.1815168>
- Yang, H., Han, T., Wu, Y., Lyu, L., Wu, W., & Li, W. (2023). Quality analysis and metabolomic profiling of the effects of exogenous abscisic acid on rabbiteye blueberry. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1224245>
- Yang, H., Tian, C., Ji, S., Ni, F., Fan, X., Yang, Y., Sun, C., Gong, H., & Zhang, A. (2021 a). Integrative analyses of metabolome and transcriptome reveals metabolomic variations and candidate genes involved in sweet cherry (*Prunus avium* L.) fruit quality during development and ripening. *PLoS ONE*, 16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260004>
- Yang, L., Wen, K. S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F., & Wang, Q. (2018). Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, 23(4). <https://doi.org/10.3390/molecules23040762>
- Yang, Y., Saand, M. A., Huang, L., Abdelaal, W. B., Zhang, J., Wu, Y., Li, J., Sirohi, M. H., & Wang, F. (2021b). Applications of Multi-Omics Technologies for Crop Improvement. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.563953>
- Ye, J., Wang, X., Hu, T., Zhang, F., Wang, B., Li, C., Yang, T., Li, H., Lu, Y., Giovannoni, J. J., Zhang, Y., & Ye, Z. (2017). An InDel in the promoter of AI-ACTIVATED MALATE TRANSPORTER9 selected during tomato domestication determines fruit malate contents and aluminum tolerance. *Plant Cell*, 29(9), 2249–2268. <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00211>
- Yousefi, M., Shadnoush, M., Khorshidian, N., & Mortazavian, A. M. (2021). Insights to potential antihypertensive activity of berry fruits. *Phytotherapy Research*, 35(2), 846–863. <https://doi.org/10.1002/ptr.6877>
- Yuan, B. Z., Sun, J., & Nishiyama, S. (2004). Effect of Drip Irrigation on Strawberry Growth and Yield inside a Plastic Greenhouse. *Biosystems Engineering*, 87(2), 237–245. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2003.10.014>
- Yuan, P., He, N., Umer, M. J., Zhao, S., Diao, W., Zhu, H., Dou, J., Kaseb, M. O., Kuang, H., Lu, X., & Liu, W. (2021). Comparative metabolomic profiling of *citrullus* spp. Fruits provides evidence for metabolomic divergence during domestication. *Metabolites*, 11(2), 1–15. <https://doi.org/10.3390/metabo11020078>
- Yue, X., Ju, Y., Zhang, H., Wang, Z., Xu, H., & Zhang, Z. (2022). Integrated transcriptomic and metabolomic analysis reveals the changes in monoterpene compounds during the development of Muscat Hamburg (*Vitis vinifera* L.) grape berries. *Food Research International*, 162. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112065>
- Zarza, X., Atanasov, K. E., Marco, F., Arbona, V., Carrasco, P., Kopka, J., Fotopoulos, V., Munnik, T., Gómez-Cadenas, A., Tiburcio, A. F., & Alcázar, R. (2017). Polyamine oxidase 5 loss-of-function mutations in *Arabidopsis thaliana* trigger metabolic and transcriptional reprogramming and promote salt stress tolerance. *Plant Cell and Environment*, 40(4), 527–542. <https://doi.org/10.1111/pce.12714>
- Zaynab M., Fatima M., Abbas S., Sharif Y., Umair M., Zafar M.H., Bahadar K. (2018). Role of secondary metabolites in plant defense against pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 124, 198–202. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.08.034>
- Zhang, A., Zheng, J., Chen, X., Shi, X., Wang, H., & Fu, Q. (2021b). Comprehensive analysis of transcriptome and metabolome reveals the flavonoid metabolic pathway is associated with fruit peel coloration of melon. *Molecules*, 26(9). <https://doi.org/10.3390/molecules26092830>

- Zhang, C., Cheng, C., Xue, J., Li, Q., Wang, C., Zhang, Y., & Yang, S. (2023). Metabolome and transcriptome profiling in different bagging pear fruit reveals that PbKCS10 affects the occurrence of superficial scald via regulating the wax formation. *Food Chemistry*, 422. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136206>
- Zhang, W., Lao, F., Bi, S., Pan, X., Pang, X., Hu, X., Liao, X., & Wu, J. (2021a). Insights into the major aroma-active compounds in clear red raspberry juice (*Rubus idaeus* L. cv. Heritage) by molecular sensory science approaches. *Food Chemistry*, 336. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127721>
- Zhang, X., Li, X., Su, M., Du, J., Zhou, H., Li, X., & Ye, Z. (2020). A comparative UPLC-Q-TOF/MS-based metabolomics approach for distinguishing peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) fruit cultivars with varying antioxidant activity. *Food Research International*, 137. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109531>
- Zheng, B., Zhao, L., Jiang, X., Cherono, S., Liu, J. J., Ogotu, C., Ntini, C., Zhang, X., & Han, Y. (2021b). Assessment of organic acid accumulation and its related genes in peach. *Food Chemistry*, 334. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127567>
- Zheng, S., Hao, Y., Fan, S., Cai, J., Chen, W., Li, X., & Zhu, X. (2021a). Metabolomic and transcriptomic profiling provide novel insights into fruit ripening and ripening disorder caused by 1-mcp treatments in papaya. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 1–22. <https://doi.org/10.3390/ijms22020916>
- Zheng, T., Dong, T., Haider, M. S., Jin, H., Jia, H., Fang, J., & Jia, H. (2020). Brassinosteroid regulates 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase to promote grape fruit development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(43), 11987–11996. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04466>
- Zheng, T., Lv, J., Sadeghnezhad, E., Cheng, J., & Jia, H. (2022). Transcriptomic and metabolomic profiling of strawberry during postharvest cooling and heat storage. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1009747>
- Zhu, X., Zhu, Q., & Zhu, H. (2023). Editorial: Towards a better understanding of fruit ripening: Crosstalk of hormones in the regulation of fruit ripening. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1173877>
- Zorrilla-Fontanesi, Y., Cabeza, A., Domínguez, P., Medina, J. J., Valpuesta, V., Denoyes-Rothan, B., Sánchez-Sevilla, J. F., & Amaya, I. (2011). Quantitative trait loci and underlying candidate genes controlling agronomical and fruit quality traits in octoploid strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Theoretical and Applied Genetics*, 123(5), 755–778. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1624-6>
- Zou, M. Y., Nie, S. P., Yin, J. Y., & Xie, M. Y. (2020). Ascorbic acid induced degradation of polysaccharide from natural products: a review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 151, 483–491. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.193>