

El escaldado superficial en pera “Beurré d’Anjou”: etiología y desarrollo de sistemas de control

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires,
Área Ciencias Agropecuarias*

Gabriela Calvo

Ingeniera Agrónoma - Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, 1989
Magíster Scientiae - Universidad de Buenos Aires, Área Producción Vegetal, 2008.

Lugar de trabajo: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA Alto Valle



FAUBA

Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Pedro Marcos Civello

Bioquímico (Universidad Nacional de La Plata)

Doctor en Ciencias Bioquímicas (Universidad Nacional de La Plata)

Co-director

Christian Larrigaudière

Bioquímico (Universidad de Toulouse, INP, Francia)

Doctor en Fisiología Vegetal (Universidad de Toulouse, INP, Francia)

Consejero de Estudios

Gustavo Maddonni

Ingeniero Agronomo (Universidad de Buenos Aires)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

JURADO DE TESIS

JURADO

Enrique Eduardo Sanchez

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional del Sur)

Magister (Universidad Nacional del Sur)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (Oregon State University)

JURADO

Gustavo Alberto Polenta

Bioquímico (Universidad Nacional de Rosario)

Doctor en Bioquímica Vegetal (Universidad de Buenos Aires)

JURADO

Carlos Guillermo Bartoli

Licenciado en Biología (Universidad Nacional de La Plata)

Doctor en Ciencias Naturales (Universidad Nacional de La Plata)

Fecha de defensa de la tesis: 13 de Octubre de 2016

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original, producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.

Gabriela Calvo

Este trabajo de tesis ha sido parcialmente publicado bajo los siguientes títulos en revistas internacionales:

Calvo, G., Candan, A.P., Civello, M., Giné-Bordonaba, J., Larrigaudière, C. 2015. An insight into the role of fruit maturity at harvest on superficial scald development in 'Beurré d'Anjou' pear. *Scientia Horticulturae* 192, 173 -179.

Larrigaudière, C., Calvo, G., Candan, A.P., Recasens, I. 2016. The role of endogenous antioxidants in scald development of 'Beurré d'Anjou' pears under different storage systems. *Acta Horticulturae*, en prensa.

A Alejandro, Martina, Gonzalo y Rodrigo, con profundo amor y gratitud.

Agradecimientos:

A Alejandro, que me ha acompañado a lo largo de toda mi carrera profesional. Agradezco su incentivo para empezar este doctorado, su paciencia infinita y su comprensión por todo el tiempo que le tuve que dedicar a la tesis. Sin su amor y su apoyo nunca podría haber hecho realidad este momento.

A mis hijos, Martina, Gonzalo y Rodrigo, que son el mayor tesoro de mi existencia... por ellos y para ellos! Y porque a pesar de la distancia, el ánimo, apoyo y alegría que me brindan me dan la fortaleza necesaria para seguir adelante.

Quiero agradecer especialmente a Ana Paula Candan, querida amiga y compañera. Gran parte de esta tesis se la debo a su apoyo sin límites, inagotable, incondicional, paciente y lleno de cariño. Te dedico a vos también esta tesis de corazón, con todo mi amor y mi agradecimiento.

A mis directores, Marcos y Christian por su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas.

También quiero dar las gracias a personas muy especiales, que han contribuido a hacer realidad este proyecto. Eduardo, Gise y Vane, que realizaron las determinaciones de laboratorio con mucha responsabilidad y compromiso. Gracias chicos por tanto esfuerzo y paciencia.

Mi gratitud al INTA, por el aporte económico para la realización del Doctorado.

Asimismo manifiesto mi agradecimiento especial a Gemma, del Área de PostCosecha del IRTA y a Inmaculada y Yolanda, de la Universidad de Lleida, quienes me brindaron su apoyo y su afecto en mis viajes a Lleida. Su amistad fue de gran ayuda durante mis estancias en su laboratorio.

A mi mamá, que me brindó su amor y cariño y estuvo pendiente del avance en el desarrollo del Doctorado. Mi más sincero agradecimiento.

A mis compañeros del INTA, Teo y Adrián, y a mis amigas Dolores y Lucia que han estado presentes con su apoyo y aliento.

Al Dr. Gustavo Maddonni, mi consejero, por su participación activa en el desarrollo de esta tesis. Su siempre atenta y efectiva colaboración, ha sido importante para que esta tesis llegara a buen puerto.

Al director de la EEA Alto Valle, Jorge Toranzo, que me dio total libertad para dedicarme a la tesis, y siempre se interesó por su progreso. Y a Pato, que me ayudo todas las veces que la necesite, sobre todo en ésta última etapa.

INDICE GENERAL

CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. Peras: contexto mundial y regional e importancia de la variedad estudiada.....	2
1.2. El escaldado superficial.....	3
1.2.1. Generalidades y Síntomas.....	3
1.2.2. Causas del desorden.....	3
1.2.3. Factores que afectan su desarrollo.....	5
1.3. Fisiología del fruto en relación con el desarrollo de escaldado superficial.....	7
1.3.1. El papel del etileno.....	7
1.3.2. El papel de los procesos oxidativos.....	8
1.4. Control de escaldado superficial.....	9
1.4.1. Métodos tradicionales y problemática actual.....	9
1.4.2. Alternativas de control.....	9
1.5. Relevancia de la investigación realizada.....	12
1.6. Hipótesis y objetivos.....	13

ETIOLOGIA DEL ESCALDADO SUPERFICIAL EN PERAS ‘BEURRE D’ ANJOU’

CAPITULO 2: Relación del escaldado superficial con el estado de madurez

2.1. Introducción.....	15
2.2. Materiales y métodos.....	15
2.3. Resultados.....	18
2.4. Discusión.....	24
2.5. Conclusiones.....	26

CAPITULO 3: La importancia del factor varietal

3.1. Introducción.....	29
3.2. Materiales y métodos.....	29
3.3. Resultados.....	32
3.4. Discusión.....	46
3.5. Conclusiones.....	49

CAPITULO 4: El papel de los antioxidantes endógenos

4.1. Introducción.....	51
4.2. Materiales y métodos.....	51
4.3. Resultados.....	53
4.4. Discusión.....	59
4.5. Conclusiones.....	62

DESARROLLO DE SISTEMAS DE CONTROL DE ESCALDADO SUPERFICIAL EN PERAS “BEURRE D’ ANJOU”

CAPITULO 5: Definición de las alternativas de control más eficaces

5.1. Introducción.....	64
------------------------	----

5.2.	Materiales y métodos.....	65
5.3.	Resultados.....	67
5.4.	Discusión.....	72
5.5.	Conclusiones.....	77
CAPITULO 6: Optimización de la tecnología de 1-MCP en peras “Beurré D’Anjou”		
6.1.	Introducción.....	79
6.2.	Materiales y métodos.....	79
6.3.	Resultados.....	81
6.4.	Discusión.....	85
6.5.	Conclusiones.....	89
CAPITULO 7: Optimización del almacenamiento con bajo O2 en peras “Beurré d’Anjou”		
7.1.	Introducción.....	91
7.2.	Materiales y métodos.....	92
7.3.	Resultados.....	93
7.4.	Discusión.....	99
7.5.	Conclusiones.....	103
CAPITULO 8: Conclusiones Generales		
8.	Conclusiones Generales.....	105
BIBLIOGRAFIA.....		106

ÍNDICE DE CUADROS

<p>Cuadro 2.3.1. Índices de madurez (firmeza, solidos solubles (SST), acidez titulable (AT), color, degradación de almidón y peso) y capacidad antioxidante total (DPPH) de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 24 de enero (H1); 7 de febrero (H2) y 21 de febrero (H3). Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes, Tukey $\alpha=0,05$.....</p>	18
<p>Cuadro 2.3.2. Tiempo hasta empezar a producir etileno (demora), tiempo hasta alcanzar el climaterio (climaterio) y magnitud del climaterio (magnitud) de peras “Beurré d’Anjou” después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes, Tukey $\alpha=0,05$.....</p>	19
<p>Cuadro 2.3.3. Índice de escaldado superficial (IES) de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 24 de enero (H1); 7 de febrero (H2) y 21 de febrero (H3), después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5^{\circ}\text{C}$ y 7 días a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey $\alpha=0,05$.....</p>	20
<p>Cuadro 3.3.1. Índices de madurez (firmeza, solidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT), color, degradación de almidón y peso) y capacidad antioxidante total (DPPH) de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H1); 10 de febrero (H2) y 24 de febrero (H3). Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes, Tukey $\alpha=0,05$....</p>	32
<p>Cuadro 3.3.2. Tiempo hasta empezar a producir etileno (demora), tiempo hasta alcanzar el climaterio (climaterio) y magnitud del climaterio (magnitud) de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H1); 10 de febrero (H2) y 24 de febrero (H3), después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes, Tukey $\alpha=0,005$.....</p>	33
<p>Cuadro 3.3.3. Índice de escaldado superficial (IES) de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H1); 10 de febrero (H2) y 24 de febrero (H3), después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 7 días a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey $\alpha=0,05$.....</p>	34
<p>Cuadro 3.3.4. Índices de madurez (firmeza, solidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT), color, degradación de almidón y peso) y capacidad antioxidante total (DPPH) de peras “Packham’s Triumph” cosechadas el 03 de febrero (H1); 18 de</p>	

febrero (H ₂) y 03 de marzo (H ₃). Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes, Tukey $\alpha=0,05$	39
Cuadro 3.3.5. Tiempo hasta empezar a producir etileno (demora), tiempo hasta alcanzar el climaterio (climaterio) y magnitud del climaterio (magnitud) de peras “Packham’s Triumph” cosechadas el 03 de febrero (H ₁); 18 de febrero (H ₂) y 03 de marzo (H ₃), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes, Tukey $\alpha= 0,005$	40
Cuadro 3.3.6. Índice de escaldado superficial (IES) de peras “Packham’s Triumph” cosechadas el 03 de febrero (H ₁); 18 de febrero (H ₂) y 03 de marzo (H ₃), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey $\alpha= 0,05$	41
Cuadro 3.3.7. Ecuaciones de ajuste lineal y valores de R ₂ para de α -farnesenos (AF) y trienos conjugados (CTols) de frutos de pera “Beurré d’Anjou”y “Packham’s Triumph” de distintas fechas de cosecha.....	43
Cuadro 4.3.1. Índices de madurez de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 11 de febrero. Los valores representan la media \pm DE.....	53
Cuadro 4.3.2. Tiempo hasta empezar a producir etileno (demora), tiempo hasta alcanzar el climaterio (climaterio) y magnitud del climaterio (magnitud) de peras “Beurré d’Anjou” almacenadas en frío convencional (Control), en régimen de ultra bajo oxígeno (ULO) y en frío convencional tratadas con 1-MCP (1-MCP), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes, Tukey $\alpha= 0,005$	54
Cuadro 5.3.1. Índices de madurez de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 4 de febrero, 2011. Los valores representan la media \pm DE.....	67
Cuadro 5.3.2. Índices de madurez de peras “Beurré d’Anjou” tratadas con distintas alternativas para el control de escaldadura superficial y evaluados después de 210 días de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C.....	69
Cuadro 5.3.3. Índices de madurez de peras “Beurré d’Anjou” tratadas con distintas alternativas para el control de escaldadura superficial y evaluados después de 270 días de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C.....	70
Cuadro 5.3.4. Índice de escaldado superficial (IES) en peras “Beurré d’Anjou” tratadas con distintas alternativas de control en cosecha y evaluadas luego de 210 (A) y 270 días (B) de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C.....	70

Cuadro 6.3.1. Índices de madurez de peras “Beuré D’ Anjou” cosechadas el 31 de enero. Los valores representan la media \pm DE.....	81
Cuadro 6.3.2. Índice de escaldado superficial (IES) en peras “Beurré d’Anjou” tratadas con distintas con distintas estrategias para modular el efecto de 1-MCP y evaluadas luego de 195 días de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 7 días a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tuckey $\alpha=0,05$	85
Cuadro 7.3.1. Índices de madurez de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 8 de febrero. Los valores representan la media \pm DE.....	93
Cuadro 7.3.2. Firmeza (N) de peras “Beurré d’Anjou” sin tratar (control), tratadas con $0,15\text{ }\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas a $-0,5^{\circ}\text{C}$ (1-MCP ₁₅₀), almacenadas en ACD (ACD) y tratadas con $0,15\text{ }\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas en ACD (ACD+1-MCP ₁₅₀), evaluados después de 60,120, 180 y 240 días de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 7 días a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes, Tukey $\alpha=0,05$	95
Cuadro 7.3.3. Color de la epidermis (Hue) de peras “Beurré d’Anjou” sin tratar (control), tratadas con $0,15\text{ }\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas a $-0,5^{\circ}\text{C}$ (1-MCP ₁₅₀), almacenadas en ACD (ACD) y tratadas con $0,15\text{ }\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas en ACD (ACD+1-MCP ₁₅₀), evaluados después de 60,120,180 y 240 días de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 7 días a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes, Tukey $\alpha=0,05$	95

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Desarrollo de escaldado superficial en peras “Beurré d’Anjou”, considerando las causas del desorden (etileno, AF, CTols) y los métodos de control en cada etapa de desarrollo (1-MCP, ULO, antioxidantes).	5
Figura 2.3.1. Incidencia (% de fruta afectada) y severidad (G1, G2, G3, G4) de escaldado superficial de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 24 de enero (H1); 7 de febrero (H2) y 21 de febrero (H3) después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey $\alpha= 0,05$	20
Figura 2.3.2. Contenido de α -farnesenos (A) y trienos conjugados (B) en la piel de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 24 de enero (H1); 7 de febrero (H2) y 21 de febrero (H3) después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el DE de las medias ($p<0,05$).....	21
Figura 2.3.3. Cambios en la capacidad antioxidante (% de inhibición) en la piel de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 24 de enero (H1); 7 de febrero (H2) y 21 de febrero (H3) después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5°C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el DE de las medias ($p< 0,05$).....	22
Figura 2.3.4. Distribución de los puntos según tiempo de almacenamiento y madurez de cosecha y vectores dentro del espacio de las componentes principales.....	23
Figura 2.3.5. Regresión entre el contenido de trienos conjugados (nmol cm-2) y el índice de escaldado superficial para cada fecha de cosecha.....	23
Figura 3.3.1. Incidencia (% de fruta afectada) y severidad (G1, G2, G3, G4) de escaldado superficial de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H1); 10 de febrero (H2) y 24 de febrero (H3) después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey $\alpha= 0,05$	34
Figura 3.3.2. Contenido de α -farnesenos (A) y trienos conjugados (B) en la piel de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H1); 10 de febrero (H2) y 24 de febrero (H3) después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p<0,05$).....	35
Figura 3.3.3. Cambios en la capacidad antioxidante (% de inhibición) en la piel de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H1); 10 de febrero (H2) y 24 de febrero (H3) después de	

- diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el DE de las medias ($p < 0,05$)..... 36
- Figura 3.3.4.** Polifenoles totales en la piel de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H1); 10 de febrero (H2) y 24 de febrero (H3) después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el DE de las medias ($p < 0,05$)..... 37
- Figura 3.3.5.** Contenido de Ácido Ascórbico en la piel de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H1); 10 de febrero (H2) y 24 de febrero (H3) después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el DE de las medias ($p < 0,05$)..... 37
- Figura 3.3.6.** Peroxidación lipídica en la piel de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H1); 10 de febrero (H2) y 24 de febrero (H3) después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el DE de las medias ($p < 0,05$)..... 38
- Figura 3.3.7.** Pérdida de electrolitos en la piel de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H1); 10 de febrero (H2) y 24 de febrero (H3) después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el DE de las medias ($p < 0,05$)..... 39
- Figura 3.3.8.** Incidencia (% de fruta afectada) y severidad (G1, G2, G3, G4) de escaldado superficial de peras “Packham’s Triumph” cosechadas el 03 de febrero (H1); 18 de febrero (H2) y 03 de marzo (H3), después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 7 días a 20°C . Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey $\alpha = 0,05$ 41
- Figura 3.3.9.** Contenido de α -farnesenos (A) y trienos conjugados (B) en la piel de peras “Packham’s Triumph” cosechadas el 03 de febrero (H1); 18 de febrero (H2) y 03 de marzo (H3), después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p < 0,05$)..... 42
- Figura 3.3.10.** Cambios en la capacidad antioxidante (% de inhibición) en la piel de peras “Packham’s Triumph” cosechadas el 03 de febrero (H1); 18 de febrero (H2) y 03 de marzo (H3), después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias

($p < 0,05$).....	44
Figura 3.3.11. Polifenoles totales en la piel de peras “Packham’s Triumph” cosechadas el 03 de febrero (H1); 18 de febrero (H2) y 03 de marzo (H3), después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p < 0,05$).....	45
Figura 3.3.12. Contenido de ácido ascórbico en la piel de peras “Packham’s Triumph” cosechadas el 03 de febrero (H1); 18 de febrero (H2) y 03 de marzo (H3), después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p < 0,05$).....	45
Figura 4.3.1. Incidencia (% de fruta afectada) y severidad (G1, G2, G3, G4) de escaldado superficial de peras “Beurré d’Anjou” almacenadas en frío convencional (Control), en régimen de bajo oxígeno (LO) y en frío convencional tratadas con 1-MCP (1-MCP), después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 7 días a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tuckey $\alpha = 0,05$	54
Figura 4.3.2. Contenido de α -farnesenos (A) y trienos conjugados (B) en la piel de peras “Beurré d’Anjou” durante el almacenamiento en frío convencional (Control), en régimen de ultra bajo oxígeno (ULO) y en frío convencional tratadas con 1-MCP (1-MCP), después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p < 0,05$).....	55
Figura 4.3.3. Cambios en la capacidad antioxidante (DPPH) en la piel de peras “Beurré d’Anjou” almacenadas en frío convencional (Control), en régimen de bajo oxígeno (LO) y en frío convencional tratadas con 1-MCP (1-MCP), después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p < 0,05$).....	56
Figura 4.3.4. Polifenoles totales en la piel de peras “Beurré d’Anjou” almacenadas en frío convencional (Control), en régimen de bajo oxígeno (LO) y en frío convencional tratadas con 1-MCP (1-MCP), después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p < 0,05$).....	57
Figura 4.3.5. Contenido de Ácido Ascórbico en la piel de peras “Beurré d’Anjou” almacenadas en frío convencional (Control), en régimen de bajo oxígeno (LO) y en frío convencional tratadas con 1-MCP (1-MCP), después de diferentes periodos de	

	almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias (p<0,05).....	58
Figura 4.3.6.	Peroxidación lipídica en la piel de peras “Beurré d’Anjou” almacenadas en frío convencional (Control), en régimen de bajo oxígeno (LO) y en frío convencional tratadas con 1-MCP (1-MCP), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias (p<0,05).....	58
Figura 4.3.7.	Pérdida de electrolitos en la piel de peras “Beurré d’Anjou” almacenadas en frío convencional (Control), en régimen de bajo oxígeno (LO) y en frío convencional tratadas con 1-MCP (1-MCP), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias (p<0,05).....	59
Figura 4.4.1.	Modelo de desarrollo de escaldado superficial en de peras “Beurré d’Anjou” almacenadas en frío convencional (Control). En el modelo se muestran las principales relaciones entre los compuestos que intervienen en el desarrollo de esta fisiopatía: síntesis de CTols a partir del etileno y acción de los antioxidantes endógenos (ácido ascórbico, polifenoles, DPPH). Al romperse el equilibrio entre sustancias oxidantes y capacidad antioxidante, se acumulan los CTols y se genera un estrés que concluye en el desarrollo de escaldado superficial. Se muestran además, los puntos de control mediante LO y 1-MCP.	61
Figura 5.3.1.	Producción de etileno de peras “Beurré d’Anjou” tratadas con distintas alternativas para el control de escaldado superficial y evaluadas durante la vida en estante (20 °C) después de 210 (A) y 270 (B) días de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (1 fruto por repetición) y las líneas verticales indican el valor de DMS (p<0,05).....	68
Figura 5.3.2.	Incidencia y severidad de escaldadura superficial en peras “Beurré d’Anjou” tratadas con distintas alternativas de control en cosecha y evaluadas luego de 210 (A) y 270 días (B) de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05).....	71
Figura 6.3.1.	Firmeza (A) y color (B) de peras “Beurré d’Anjou” tratadas con distintas estrategias para modular el efecto del 1-MCP y evaluadas después de 195 días de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C.....	82
Figura 6.3.2.	Producción de etileno (nL g-1 h-1) de peras “Beurré d’Anjou” tratadas con distintas estrategias para modular el efecto de 1-MCP y evaluadas durante la vida en estante (20°C) después de 195 días de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores	

- representan la media de 5 repeticiones (1 fruto por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p < 0,05$)..... 83
- Figura 6.3.3.** Incidencia y severidad de escaldado superficial en peras “Beurré d’Anjou” tratadas con distintas con distintas estrategias para modular el efecto de 1-MCP y evaluadas luego de 195 días de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 7 días a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey $\alpha = 0,05$.. 84
- Figura 7.3.1.** Producción de etileno de peras “Beurré d’Anjou” sin tratar (control), tratadas con $0,15\text{ }\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (1-MCP150), almacenadas en ACD (ACD) y tratadas con $0,15\text{ }\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas en ACD (ACD+1-MCP150). Evaluaciones realizadas durante la vida en estante ($20\text{ }^{\circ}\text{C}$) de los frutos después de 60(A), 120(B), 180 (C), 240 (D) días de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 94
- Figura 7.3.2.** Contenido de α -farnesenos (A) y de trienos conjugados (B) de peras “Beurré d’Anjou” sin tratar (control), tratadas con $0,15\text{ }\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (1-MCP150), almacenadas en ACD (ACD) y tratadas con $0,15\text{ }\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas en ACD (ACD+1-MCP150). Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el DMS según Tukey ($0,05$)..... 97
- Figura 7.3.3** Incidencia y severidad de escaldado superficial de peras “Beurré d’Anjou” sin tratar (control), tratadas con $0,15\text{ }\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (1-MCP150), almacenadas en ACD (ACD) y tratadas con $0,15\text{ }\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas en ACD (ACD+1-MCP150), evaluadas después de 60, 120, 180 y 240 días de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 7 días a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 98
- Figura 7.3.4.** Incidencia de cavernas de peras “Beurré d’Anjou” sin tratar (control), tratadas con $0,15\text{ }\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (1-MCP150), almacenadas en ACD (ACD) y tratadas con $0,15\text{ }\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas en ACD (ACD+1-MCP150), evaluadas después de 60, 120, 180 y 240 días de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 7 días a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 99

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1.1. Peras “Beurré d’Anjou”.....	2
Fotografía 1.2. Peras “Beurré d’Anjou”con síntomas de escaldado superficial.....	3
Fotografía 2.2.1. Severidad de Escaldado Superficial según el porcentaje de la superficie del fruto afectada por manchas.....	17
Fotografía 5.3.1. Aspecto interno de peras “Beurré d’Anjou”con síntomas de cavernas leves (A) y severos (B) en frutos almacenados en ACD.....	72

LISTADO DE SIGLAS Y ABREVIATURAS

1-MCP: 1-metilciclopropeno
ACC: ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico
ACD: atmósfera controlada dinámica
ACO: ACC oxidasa
ACS: ACC sintasa
AF: α -farneseno
AFS: α -farneseno sintetasa
AsA: ácido ascórbico
APX: ascorbato peroxidasa
AT: acidez titulable
AVG: aminoetoxi-vinil-glicina
BHT: butilhidroxitolueno
C₂H₄: etileno
CAT: catalasa
CTols: trienos conjugados
DA: Diferencia de Absorbancia
DNA: ácido desoxirribonucleico
DPA: difenilamina
ERO: especies reactivas de oxígeno
GHS: glutatión
GR: glutatión reductasa
H₂O₂: peróxido de hidrógeno
HMGR: hidroximetilglutaril-CoA reductasa
ILOS: estrés inicial de bajo O₂
LMRs: límites máximos de residuos
LO: bajo oxígeno
LOL: low oxygen level
MDA: malondialdehído
MHO: 6-metil-5-hepten-2-ona
POX: deshidroascorbato peroxidasa
PPO: polifenoloxidasas
PUT: putrescina
SAM: S-adenosilmetionina
SOD: superóxido dismutasa
SPD: espermidina
SPM: espermina
SST: sólidos solubles totales
TCA: ácido tricloroacético
ULO: ultra bajo oxígeno

RESUMEN

EL ESCALDADO SUPERFICIAL EN PERA “BEURRÉ D’ANJOU”: ETIOLOGÍA Y DESARROLLO DE SISTEMAS DE CONTROL

Las recientes directivas europeas que han prohibido el uso de productos químicos para controlar el escaldado superficial han generado un problema importante para el sector de la pera. Considerando este reto, esta tesis ha tenido como objetivo determinar los mecanismos fisiológicos y bioquímicos implicados en el desarrollo del escaldado superficial en peras “Beurré d’Anjou” y definir sistemas de control mediante estrategias alternativas al uso de antiescaldantes tradicionales. Los resultados referentes al primer objetivo mostraron que el modelo generalmente utilizado en manzanas para explicar la relación entre la madurez a la cosecha y la incidencia de escaldado superficial no puede extrapolarse a las peras. Tanto en pera “Beurré d’Anjou” como en “Packham’s Triumph”, los frutos inmaduros fueron menos propensos a desarrollar escaldado que los frutos maduros. Se mostró además que el escaldado se manifiesta cuando se sobrepasa un umbral crítico de trienos conjugados, que es dependiente del cultivar y que el contenido de ácido ascórbico podría ser un marcador interesante para predecir la sensibilidad de la pera en conservación. De los tratamientos alternativos evaluados, los únicos que inhibieron el escaldado fueron el 1-MCP y las atmósferas con bajo oxígeno. Sin embargo, el 1-MCP impidió el normal ablandamiento de los frutos, y la combinación de bajo O₂ y alto CO₂ provocó el desarrollo de cavernas internas. Para limitar los problemas citados con 1-MCP se decidió optimizar los protocolos con ajustes en el manejo de la temperatura o con tratamientos combinados con etileno. Si bien estas estrategias lograron modular el efecto del 1-MCP en distinto grado, el desarrollo de escaldado superficial fue un factor limitante. El almacenamiento con mayores concentraciones de O₂ y la aplicación de bajas dosis de 1-MCP redujeron significativamente el desarrollo de escaldado con respecto al control, sin embargo, no evitaron el desarrollo de cavernas.

Palabras Clave: *Pyrus communis* - Beurré d’Anjou - α -farneseno- trienos conjugados- escaldado superficial- etileno- capacidad antioxidante - 1-metilciclopropeno - atmósferas controladas.

ABSTRACT

SUPERFICIAL SCALD IN "BEURRÉ D'ANJOU" PEAR: ETIOLOGY AND DEVELOPMENT OF CONTROL SYSTEMS

Recent European Directives that have banned the use of chemicals to control superficial scald have generated an important problem to the pear sector. Considering this challenge, this thesis has aimed to determine the physiological and biochemical mechanisms involved in the development of superficial scald in pears "Beurre d'Anjou" and define control systems by using alternative strategies to traditional chemical products. The results concerning to the first objective showed that the model generally used on apples to explain the relationship between maturity at harvest and superficial scald incidence can not be extrapolated to pears. Both "Beurre d'Anjou" and "Packham's Triumph" unripe fruits were less likely to develop scald than mature fruits. It was further shown that superficial scald occurs when a critical threshold of conjugated trienes, which is dependent on the cultivar, is exceeded and that the ascorbic acid could be an interesting marker for predicting pear sensitivity during storage. Of all alternative treatments evaluated, the only that inhibited scald were 1-MCP and storage at low oxygen atmospheres. However, 1-MCP prevented the normal softening of fruits, and the combination of low O₂ and high CO₂ caused the development of internal caverns. To limit these problems with 1-MCP, it was decided to optimize protocols with adjustments of temperature management or combined treatment with ethylene. While these strategies managed to modulate the effect of 1-MCP in varying degrees, the development of superficial scald was a limiting factor. Storage with higher O₂ concentrations and application of low doses of 1-MCP significantly reduced scald development compared to control, however, did not prevent the development of caverns.

keywords: *Pyrus communis* - Beurré d'Anjou - α -farnesene - conjugated trienols - superficial scald - ethylene - antioxidant capacity - 1-methylcyclopropene - controlled atmosphere

CAPITULO 1.

INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. Peras: contexto mundial y regional e importancia de la variedad estudiada

La Producción Mundial de pera alcanzó los 23 millones de toneladas en el año 2012, siendo China el mayor productor con 16 millones de toneladas (69% del volumen total). La producción, en millones de toneladas, de Estados Unidos, Argentina e Italia es 0,77; 0,70 y 0,64, respectivamente. El 81% de la producción total se destina al consumo en origen, 8% al comercio entre naciones (exportación - importación) y el 11% al procesamiento industrial (World Apple and Pear Association Report, 2015).

En Argentina, la región productora de pera se concentra en los Valles de Río Negro y Neuquén y Río Negro, que aportan el 85% de la oferta nacional y el Valle de Uco, que aporta el 14%. El 50% de la producción nacional es del cultivar William's y el 30% de Packham's Triumph. Les sigue el cultivar Beurré d'Anjou con el 11%, mientras que Red Bartlett y Red D'Anjou suman el 6% y Abate Fetel el 2% del volumen producido (Sánchez y Villarreal, 2013). Argentina es el principal exportador de peras con 0,46 millones de toneladas; le sigue en orden de importancia China con 0,43 millones de toneladas y la Unión Europea con 0,26 millones de toneladas. Rusia es el principal país importador con un volumen de 0,37 millones de toneladas, seguido por la Unión Europea con un volumen muy cercano (0,36 millones de toneladas) (Valenciano et al., 2012).



Fotografía 1.1. Peras “Beurré d’Anjou”

El cultivar Beurré d'Anjou, tiene un fruto piriforme, de tamaño medio a grande, de 270 a 285 gramos de peso, de 85 mm de altura y 80 mm de calibre. El pedúnculo es corto, grueso y algo carnoso, hendido en el ápice. La epidermis es fina y delicada, de color verde claro, con numerosas lenticelas bien visibles. (Fotografía 1). La pulpa es de color blanco cremoso, de textura mantecosa y ligeramente granulada. La floración se produce a final de setiembre y el fruto alcanza la madurez a final de enero, cuando el mismo cuenta con un promedio de 129 días de edad y la firmeza de la pulpa ha caído a 68,9 - 73,4 N, los sólidos solubles superan el 10-11%, la acidez málica es de 3,5-4 g/l y el almidón se ha degradado en un 20 a 25% (Benítez, 2001).

Las peras “Beurré d'Anjou” toleran muy bien el almacenamiento refrigerado (-1 °C a -0,5 °C) tanto en atmósfera convencional (de 5 a 7 meses), como en condiciones de atmósfera controlada (AC) que puede prolongarse hasta 10-11 meses (Benítez, 2001). Las peras de este cultivar son altamente susceptibles al desarrollo de escaldado superficial, cualquiera sea la atmósfera bajo la cual se conserven (Chen et al., 1993). En la región de Alto Valle de Río Negro esta fisiopatía constituye la principal limitante

para la conservación prolongada y la comercialización de peras y manzanas (Benítez y Calvo, 2002). En ensayos realizados en la región se observó que la incidencia de escaldado en peras “Beurré d’Anjou” sin tratamiento con antiescaldante fue de 100% tras 9 meses de almacenamiento en atmósfera convencional (Calvo et al., 2002). Aun en condiciones de conservación en AC, este desorden afecto a más del 80% de los frutos (Candan y Calvo, 2009).

1.2. El escaldado superficial

1.2.1. Generalidades y Síntomas

El escaldado superficial es un desorden fisiológico de postcosecha que afecta la calidad de las manzanas [*Malus sylvestris* (L.) Mill var. *doméstica* (Borkh.) Mansf.], peras Europeas (*Pyrus communis* L.) y peras asiáticas (*Pyrus serotina* Redh.) en todas las zonas productoras del mundo y que puede originar elevadas pérdidas económicas (Soria y Recasens, 1997). Los síntomas se caracterizan por un pardeamiento de la superficie del fruto sin comprometer la pulpa (Fotografía 2). Durante los estadios iniciales las células hipodérmicas empiezan a colapsarse y, a medida que la severidad de este desorden se incrementa, las células epidérmicas y corticales pueden verse afectadas, mientras que la superficie de la fruta se torna rugosa y/o con pequeñas depresiones. A medida que el desorden aumenta en severidad, se incrementa tanto el oscurecimiento del color como el área afectada (Soria y Recasens, 1997). Su aparición generalmente ocurre después de un período prolongado de almacenamiento a bajas temperaturas y se manifiesta después de la exposición a temperatura ambiente por un determinado tiempo. En la gran mayoría de las variedades el daño se manifiesta después de un período mínimo de tres a cuatro meses de almacenamiento refrigerado (Ingle y D’Souza, 1989).



Fotografía 1.2. Peras “Beurré d’Anjou” con síntomas de escaldado superficial

1.2.2. Causas del desorden

El escaldado superficial es un problema complejo; aún no se conoce en forma fehaciente el mecanismo bioquímico que lo ocasiona (Soria y Recasens, 1997), pero en general se acepta que el estrés oxidativo es una de sus causas (Whitaker, 2004). Murray et al., (1964) postularon que el daño observado en manzanas se debería al compuesto α -farneseno (2,6- dimetil-10 metilen-2,6,11 dodecatrieno), un sesquiterpeno de origen

natural, componente de la cutícula cerosa y producido por la epidermis del fruto. Posteriormente Huelin y Coggiola (1968) demostraron que el escaldado estaba más relacionado con compuestos derivados de la oxidación del α -farneseno (AF), los trienos conjugados (CTols), que con la cantidad de dicho metabolito presente en el tejido.

En el desarrollo de esta fisiopatía intervienen diferentes etapas que comienzan en precosecha con la síntesis de los precursores del α -farneseno en la piel (Soria y Recasens, 1997). La conversión de precursores a α -farneseno ocurre después de la cosecha y luego, estos compuestos son oxidados. Los principales productos de esta oxidación son isómeros del 2,6,10-trimetildodeca-2,7,9,11,tetraen-6-ol, comúnmente llamados trienos conjugados (Whitaker y Solomos, 1997). Los trienos conjugados permanecen en la cutícula dado que son no-volátiles, y luego se oxidan liberando uno o más volátiles tóxicos para la planta (Filmer y Meigh, 1971; Mir et al., 1999). Dentro de ellos se encuentra el formaldehído, acetaldehído, acetona, metil-etil cetona, metil-vinil cetona, piruvaldehído y 6-metil-5-hepten-2-ona (MHO). Se sugirió que el MHO, compuesto altamente lipofílico, era el agente tóxico primario. En la segunda fase del desarrollo de la escaldadura, los trienos conjugados oxidan los polifenoles así como los lípidos de las membranas celulares de la epidermis, lo que provoca alteraciones crecientes que desencadenan la muerte celular. Las células epidérmicas se tornan marrones y luego mueren dejando zonas oscuras en la piel (Lurie y Watkins, 2012).

Un efecto importante del frío es inducir la síntesis de α -farneseno, posiblemente mediante una activación de los genes respectivos (Gapper et al., 2006). Las bajas temperaturas también debilitan los mecanismos antioxidantes de los tejidos vegetales (Mir et al., 1999). Los cultivares de peras y manzanas susceptibles a escaldado exhiben una alta tasa de síntesis de α -farneseno dependiente de etileno, unas semanas después de iniciar el almacenamiento a bajas temperaturas (Whitaker y Solomos, 1997).

La severidad del escaldado superficial es proporcional al grado de oxidación del α -farneseno, y el daño no se produce durante el almacenamiento si existe suficiente cantidad de antioxidantes para prevenir o limitar la oxidación de este compuesto. Un amplio rango de antioxidantes naturales, que incluyen compuestos con grupos amino, fenólicos o sulfuro, puede inhibir la oxidación del α -farneseno a trienos conjugados (Meir y Bramlage, 1988). El contenido de antioxidantes requerido depende principalmente de la cantidad de α -farneseno producido por los frutos durante el almacenamiento.

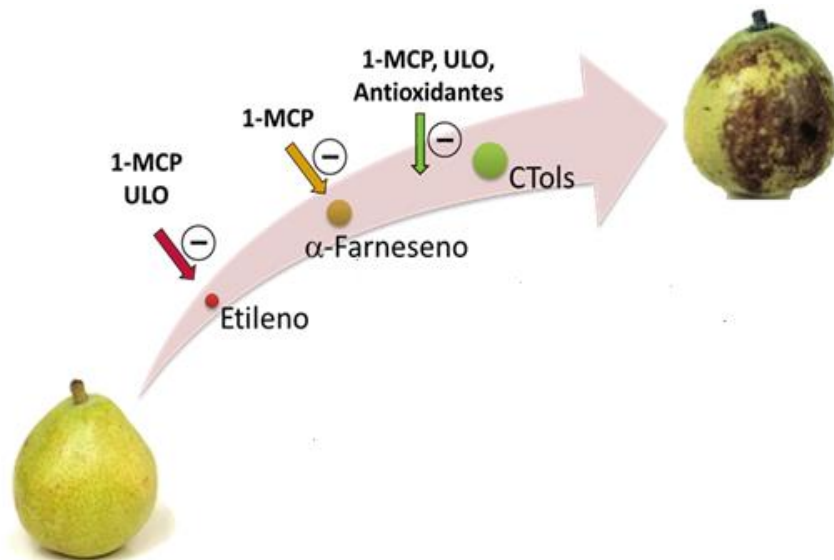


Figura 1.1. Desarrollo de escaldado superficial en peras “Beurré d’Anjou”, considerando las causas del desorden (etileno, AF, CTols) y los métodos de control en cada etapa de desarrollo (1-MCP, ULO, antioxidantes).

1.2.3. Factores que afectan su desarrollo

Factores fisiológicos

El cultivar es el primer y principal factor de predisposición al escaldado superficial. Esta alteración afecta a la mayoría, pero no la totalidad, de las variedades de peras y manzanas, lo cual sugiere una base genética para la alteración. En manzanas son muy sensibles los cultivares Granny Smith, y variedades del grupo Delicious, moderadamente sensibles Fuji y Braeburn y poco susceptibles o resistentes Gala, Braeburn, Pink Lady y Golden Delicious. En peras son muy sensibles Beurré d’Anjou, Packham’s Triumph, Blanquilla, Decana de Comice, entre otras, mientras que la variedad Williams es poco susceptible (Little y Holmes, 2000). La diferente susceptibilidad al escaldado que se observa entre variedades podría estar determinada por diferencias en la concentración de antioxidantes naturales en la piel del fruto (Meir y Bramlage, 1988). Gallerani y Pratella (1990) encontraron tres veces más α -tocoferol en el tejido sano de manzanas “Granny Smith” que en el sector escaldado. Coincidentemente, Zoffoli et al., (1998) hallaron el doble de α -tocoferol en peras “Packhams Triumph” y “Beurré d’Anjou” en el sector sano que en el dañado. También influye el nivel de hidroperóxidos y la capacidad de síntesis de α -farneseno por parte del fruto, lo que depende de la expresión genética del cultivo, que a su vez está influida por factores ambientales.

Otro factor fisiológico muy importante es el estado de madurez en el momento de la cosecha. En manzanas, la susceptibilidad y la severidad de esta fisiopatía es tanto mayor cuanto más precoz haya sido la cosecha (Anet, 1972; Ingle y D’Souza, 1989). Esto ha sido asociado a una menor actividad del sistema antioxidante de la epidermis del fruto (Barden y Bramlage, 1994). Meir y Bramlage (1988) describieron un incremento en la actividad antioxidante en fruta de cosecha tardía, en comparación con fruta cosechada más inmadura. El retraso de la cosecha incrementa la concentración de los compuestos antioxidantes como el α -tocoferol y carotenoides en manzanas. Por otro lado, la

actividad de la catalasa, enzima con actividad antioxidante, decrece rápidamente en los frutos recolectados de forma temprana.

Existe una relación directa entre la pigmentación del fruto en variedades coloreadas y la incidencia de escaldado. Cualquier factor que provoque una coloración incompleta del fruto, como su ubicación en la parte interior del árbol o un menor grado de madurez, aumenta el riesgo de escaldado. Si bien es cierto que la concentración de antocianos tiene una correlación negativa con la incidencia de escaldado, el papel de estos pigmentos hidrosolubles como antioxidantes es dudoso, ya que en ocasiones se ha comprobado que la concentración de CTols no depende del nivel de antocianos en el fruto (Durán Torrellardona, 1983).

Factores ambientales y técnicas culturales durante el desarrollo del fruto

Mientras que la susceptibilidad varietal está muy ligada a la concentración de antioxidantes endógenos, la actividad de los mismos puede estar influenciada por los factores ambientales antes de la cosecha (Meir y Bramlage, 1988). Entre los factores ambientales y culturales que influyen pueden mencionarse el clima, la nutrición mineral y los tratamientos químicos (Emongor et al., 1994). La mayoría de los estudios fueron realizados en manzana, sin embargo los mecanismos subyacentes podrían ser los mismos que en peras.

El clima tiene una clara influencia en la susceptibilidad al escaldado en manzanas, debido a la acción conjunta de diversos parámetros como son la temperatura, la humedad y la insolación. Barden y Bramlage (1994c) han comprobado que la concentración y la actividad de los antioxidantes de la piel aumentan con las bajas temperaturas antes de la cosecha. En zonas de clima seco el riesgo de escaldado es mayor que en climas húmedos (Durán Torrellardona, 1983). La exposición al sol influye en variedades coloreadas, ya que promueve la síntesis de antocianinas por lo que, indirectamente reduce el riesgo de escaldado. Barden y Bramlage (1994b) han observado que reduciendo la intensidad de luz desciende la concentración de antioxidantes en la piel y aumenta la susceptibilidad al escaldado.

Los tratamientos químicos que afectan al equilibrio hormonal de las plantas tienen una marcada influencia en el desarrollo de escaldado superficial. Los tratamientos precosecha con etefón, aplicados para inducir la maduración de los frutos, han reducido el porcentaje y la intensidad de escaldado en manzanas. Estos tratamientos incrementan el contenido de antioxidantes liposolubles en la piel del fruto (Du y Bramlage, 1994a). Por el contrario, los tratamientos con paclobutrazol (inhibidor de la síntesis de giberelinas) favorecen la aparición de escaldado de manzanas durante su almacenamiento, debido probablemente a la cosecha del fruto en un estado de desarrollo menos avanzado (Grael y Recasens, 1992). Otros compuestos que afectan a la producción de etileno y por lo tanto al estado de madurez del fruto son la aminoetoxivinilglicina (AVG) y el 1-Metilciclopropeno (1-MCP), serán mencionados en el apartado de control de escaldado superficial.

Factores de almacenamiento

El escaldado superficial es considerado como un daño por frío (Watkins et al., 1995). Huelin y Coggiola (1970c) encontraron que la acumulación del α -farneseno es

dependiente de la temperatura, con un máximo a los 5 °C. A temperaturas más altas, la evaporación puede exceder la tasa de síntesis. La ocurrencia y severidad del escaldado son generalmente peores a bajas temperaturas con largos períodos de almacenamiento (Watkins et al., 1995).

En cuanto a los niveles de gases dentro de la cámara, se ha demostrado que los bajos niveles de oxígeno, hasta los límites permitidos para evitar fermentaciones en el fruto, y los altos niveles de dióxido de carbono, justo por debajo del límite de toxicidad, son las condiciones de almacenamiento más efectivas para el control de esta fisiopatía (Lurie y Watkins, 2012). Experimentalmente se ha comprobado que un bajo porcentaje de O₂ sólo es eficaz si se mantiene a lo largo de toda la conservación; una interrupción es suficiente para que se produzca el escaldado, y lo mismo ocurre con el efecto del alto porcentaje de CO₂ (Durán Torrellardona, 1983).

1.3. Fisiología del fruto en relación con el desarrollo de escaldado superficial

La etiología y los distintos métodos de control del escaldado superficial en frutos han sido objeto de numerosos estudios y de trabajos de revisión (Meigh, 1970; Ingle y D'Souza, 1989; Zoffoli, et., 1995; Soria y Recasesns, 1997; Wang y Dilley, 1999). Si bien se ha avanzado en el conocimiento de los mecanismos físicos, fisiológicos y bioquímicos responsables de la susceptibilidad de los frutos al escaldado, el proceso no ha sido aún completamente determinado, particularmente en el caso de peras (Lurie y Watkins, 2012).

1.3.1. El papel del etileno

El etileno es una hormona vegetal, que inicia y coordina los principales cambios que se producen en peras y manzanas durante la maduración. Cuando los frutos climatéricos comienzan a madurar, se desencadena un proceso de retroalimentación positiva en la cual el etileno estimula su propia síntesis (autocatálisis), generándose una elevada producción. Una vez que la maduración de los frutos climatéricos ha comenzado, la concentración de etileno interna se incrementa rápidamente hasta niveles de saturación de los receptores. En pera, el nivel interno de etileno al momento del pico climatérico alcanza los 40 µl l⁻¹ en promedio (Abeles et al, 1992). El etileno es también una hormona que se produce en condiciones de estrés. La inducción de su biosíntesis se puede producir en respuesta a la invasión patogénica, heridas, golpes, agresiones químicas o térmicas, daño por frío, y otras condiciones de estrés (McGlasson, 1985).

El etileno debe unirse a unos receptores específicos de la célula para inducir la cascada de efectos fisiológicos (Sisler, 1979). El sitio de unión del etileno en planta fue determinado tanto *in vivo* como *in vitro* y corresponde a proteínas asociadas con las membranas celulares, aunque no se puede descartar la existencia de receptores con localizaciones alternativas. La hormona se acopla a una región del receptor induciendo de esta forma una serie de señales moleculares en cascada, que son necesarias para la formación de las enzimas y proteínas responsables de las modificaciones que tienen lugar en la maduración (Bleecker y Kende, 2000).

El etileno se relaciona con el desarrollo de diversos desórdenes fisiológicos de postcosecha, entre ellos el escaldado superficial (Kader, 1985). El control de la síntesis de α -farnesenos estaría asociado con la producción de etileno. La aplicación de AVG

inhibe la producción de etileno y de α -farnesenos, mientras que el etefon incrementa ambos (Ju y Curry, 2000a). A su vez, el 1-MCP, inhibidor de la percepción de etileno, también es efectivo en reducir la acumulación de α -farnesenos. Estudios recientes demuestran que la transcripción del gen AFS1 está estrechamente ligada con la producción de etileno y la subsecuente acumulación de α -farnesenos en manzanas y peras (Gapper et al., 2006). La manipulación genética de la ruta biosintética del etileno en manzanas permitió determinar que líneas transgénicas antisentido para ACC sintasa o ACC oxidasa, presentaban menor producción autocatalítica de etileno y menor susceptibilidad para el escaldado superficial (Pesis et al., 2009).

1.3.2. El papel de los procesos oxidativos

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) se generan durante el metabolismo celular normal, siendo su acumulación tóxica y dañina para la célula (Pinhero et al., 1997). El término “estrés oxidativo” hace referencia a un desequilibrio entre la generación y degradación de ERO, produciendo como consecuencia daños bioquímicos en la célula.

Las plantas cuentan con sistemas antioxidantes no enzimáticos y enzimáticos para evitar el daño oxidativo (Foyer et al., 1994). El sistema no enzimático está formado por sustancias de bajo peso molecular tales como el ácido ascórbico (AsA), el glutatión (GHS), el α -tocoferol, compuestos fenólicos y los carotenoides (Foyer et al., 1994), mientras que el sistema enzimático está constituido por enzimas como superóxido dismutasa (SOD), glutatión reductasa (GR), catalasa (CAT), ascorbato peroxidasa (APX), deshidroascorbato peroxidasa (POX), monodehidroascorbato reductasa, dehidroascorbato reductasa (Bowler et al., 1992). El desarrollo de escaldado superficial, al ser un daño por frío, podría estar asociado con un incremento de la producción de radicales libres (Watkins et al., 1995). Las células de las plantas expuestas a bajas temperaturas usualmente incrementan la producción de ERO como O_2^- y H_2O_2 (Pinhero et al., 1997). Bajo condiciones de estrés por bajas temperaturas, la disrupción de la cadena de transporte de electrones en la mitocondria puede provocar la generación de radicales superóxido. Por lo tanto, la generación de radicales libres y ERO podría ser una potencial causa primaria para el desarrollo de escaldadura superficial (Purvis et al., 1995).

La minimización del daño inducido por ERO podría estar asociada con la menor susceptibilidad de los frutos al desarrollo de escaldado superficial y, por el contrario, un incremento de la producción de radicales libres y eventos peroxidativos acentuaría la susceptibilidad a esta fisiopatía. El desarrollo de escaldado también podría estar relacionado con la producción de radicales libres a través del catabolismo del α -farneseno (Rao et al., 1998). Vilaplana et al., (2006) reportaron una mayor actividad POX en manzanas tratadas con 1-MCP que en los controles. Por el contrario Yazdani et al., (2011) encontraron que las actividades de POX y CAT fueron menores en frutos de peras tratadas con 1-MCP que en los controles. El efecto inhibitorio del 1-MCP en la acumulación de α -farneseno y CTols podría reducir la necesidad de estos tejidos de activar los procesos antioxidantes. La asociación entre las enzimas SOD, APX y CAT y la incidencia de escaldado superficial fue menos consistente que para la POX. Un mayor contenido de antioxidantes como el α -tocoferol, el ácido ascórbico y los flavonoles (Barden y Bramlage, 1994a) así como una mayor actividad de POX y APX (Rao et al., 1998) se relacionaron con una mayor resistencia al escaldado.

1.4. Control de escaldado superficial

1.4.1. Métodos tradicionales y problemática actual

Los antioxidantes difenilamina (DPA) y etoxiquina (6-etoxi-2,2,4-trimetil-1,2-dihidroquinolina), que inhiben la oxidación del α -farneseno, han sido la principal forma de control de escaldado superficial (Ingle y D'Souza, 1989; Little y Holmes, 2000; Lurie y Watkins, 2012). Lurie et al., (1989) encontraron que el nivel de compuestos oxidados del α -farneseno era siete veces menor en la fruta tratada con DPA que en la fruta sin tratar, pero también encontraron que este tratamiento prevenía la producción de etileno, reducía la actividad de enzimas oxidantes como la polifenoloxidasas, peroxidasa y lipoxigenasa y evitan la oxidación de la clorofila. Estos autores proponen que la DPA previene el escaldado por su efecto antioxidante general y no por inhibir específicamente la oxidación del α -farneseno. El efecto de la DPA sobre el escaldado también podría estar relacionado con el efecto inhibitorio que ejerce sobre la respiración y el flujo de electrones correspondiente a la vía del citocromo (Purvis y Gegogaine, 2003). El mecanismo de acción de la etoxiquina es similar al de la DPA; los tratamientos con etoxiquina no afectan claramente el contenido de α -farneseno pero sí disminuyen la acumulación de CTol, lo cual sugiere que el principal modo de acción es la prevención de la oxidación (Chen et al., 1990).

La legislación de los diferentes países es cada vez más exigente en cuanto al nivel de residuos permitidos en los frutos, y la presión de la opinión pública por reducir el uso de compuestos sintéticos está en constante aumento (Drzyzga, 2003; Lurie y Watkins, 2012). En el año 2009 la comisión europea decidió excluir a la DPA de la lista de productos permitidos (Anexo I de la Directiva 91/414/CEE), debido a dudas sobre algunos metabolitos no identificados y a la posible formación de nitrosaminas durante el almacenamiento de manzanas tratadas. En cuanto a la etoxiquina, en Marzo del 2011 la Comisión Europea decidió no incluir la etoxiquina en el Anexo I.

1.4.2. Alternativas de control

Aceites: Los aceites minerales reducen los síntomas de escaldado en manzanas (Brooks et al., 1923; Hall et al., 1953; Fernández et al., 2005) y en peras (Ju and Curry, 2000b). A su vez, diversos aceites vegetales también demostraron ser efectivos en reducir el escaldado (Scott et al., 1995; Ju et al., 2000; Ju y Curry, 2000c). Los aceites minerales reducen la permeabilidad de la piel y la tasa de respiración de los frutos (Shutak y Christopher, 1953), pero el mecanismo de acción se atribuye en gran medida a la migración de los α -farnesenos de los frutos a los aceites (Huelin y Coggiola, 1968).

Recubrimientos comestibles: La aplicación de lecitina (Watkins et al., 1988) y de ésteres de sacarosa (Semperfresh®) (Meheriuk y Lau, 1988), inhibió el escaldado en manzanas, pero no en todos casos. El Semperfresh® no demostró ningún beneficio en manzanas (Bauchot et al., 1995) y algunos investigadores observaron que su aplicación agravó la incidencia de este desorden en fruta cosechada temprano (Kerbel et al., 1989; Calvo, 1997). La aplicación del producto solo en peras provocó una reducción de la escaldadura superficial en "Packham's Triumph" y, en menor medida, en "Beurré d'Anjou" (Calvo, 1997). El efecto inhibitorio de los recubrimientos sobre el escaldado estaría relacionado con el retraso general de la maduración, la reducción de la

producción de etileno y de la tasa de respiración, la acumulación de α -farneseno y CTols y la peroxidación de lípidos de la membrana (Lu et al., 2011 b).

Antioxidantes Alternativos: El butilhidroxitolueno (BHT) redujo el escaldado en manzanas, pero en menor medida que la DPA (Gough et al., 1973). Lotz y Combrink (1993) probaron diversos antioxidantes naturales (palmitato de ascorbilo, α -tocoferol, aceite de sésamo) y otros sintéticos (BHT, Butilhidroxianisol) y comprobaron que eran menos efectivos que la DPA. El mecanismo de acción de los antioxidantes alternativos es similar al de la DPA reduciendo la acumulación de CTols, y en el caso del BHT se observó una marcada reducción de la producción de MHO (Mir et al., 1999a).

Reguladores de crecimiento: Los tratamientos precosecha con etefon (ácido cloro-etil-fosfónico), realizados para inducir la maduración, reducen la intensidad de escaldado; sin embargo, los resultados no fueron consistentes (Zoffoli et al., 1995). En manzanas, sobre todo cuando la susceptibilidad no es elevada, la aplicación de etefon redujo el desarrollo de escaldado (Lurie et al., 1987). Los vapores de etanol controlaron el escaldado en manzanas “Granny Smith” (Ghahramani y Scott, 1998), mientras que el tratamiento por inmersión fue menos efectivo (Scott et al., 1995a). Las aplicaciones de etanol reducen la acumulación de α -farnesenos y CTols, si bien el mecanismo de acción no ha sido totalmente esclarecido. Es posible que el etanol actúe como antioxidante (Ghahramani et al., 1999), o que inhiba la producción de etileno manteniendo así las propiedades físicas de los lípidos de la membrana (Pesis, 2005).

Tratamientos físicos: La inhibición del escaldado mediante los tratamientos térmicos ha sido asociada con un retraso en la producción de etileno, una reducción en la acumulación de α -farneseno, de CTols y menor actividad PPO (Lurie, 2005). La reducción de los CTols podría ser debido a la menor disponibilidad de sustrato (α -farneseno) y/o la inhibición de su oxidación (Lurie et al., 1990). La estrategia de retrasar el enfriamiento de los frutos (acondicionamiento) puede incrementar (Meigh, 1970), reducir (Little y Peggie, 1987; Piretti et al., 1994) o no afectar (Watkins et al., 1995) la incidencia de escaldado. Sin embargo, las estrategias de enfriamiento progresivo lograron reducir efectivamente el escaldado en manzanas “Granny Smith” (Little y Peggie, 1987) y este efecto fue asociado con una ligera menor acumulación de α -farnesenos hasta los 2-4 meses, y una menor concentración de CTols. Watkins et al., (1995) demostraron que el calentamiento intermitente de manzanas durante el almacenamiento inhibió el desarrollo de escaldado. Este efecto fue debido a una menor acumulación del α -farneseno, incrementando la actividad antioxidante endógena, o bien favoreciendo la volatilización de los α -farnesenos (Watkins et al., 1995; Lu et al., 2011a). Sin embargo, este tipo de tratamientos podrían no ser recomendables para su uso comercial, debido a que aceleran la maduración de los frutos.

Eliminación de etileno: Los resultados de la reducción del etileno presente en la cámara hasta niveles de 1 ppm no son consistentes para diferentes años y autores. Se han logrado buenos resultados en manzanas (Knee y Hatfield, 1981), pero en otros casos no se observaron beneficios (Lau, 1990). Graell y Recasens (1992) obtuvieron resultados positivos en manzanas Starking Delicious en una temporada pero no en la siguiente. La remoción de etileno se asocia con menores niveles de α -farnesenos y CTols (Knee y Hatfield, 1981) y el mecanismo primario sería la reducción del sustrato de oxidación.

Ventilación: Incrementar la tasa de ventilación alrededor de frutos almacenados reduce la incidencia de escaldado (Huelin y Coggiola, 1970b), siendo menos efectivo en años de alta incidencia de escaldado. Esto es debido a que se incrementa la evaporación de α -farnesenos, pero en algunos casos la producción de α -farnesenos fue estimulada.

Modificación de la atmósfera: La eficiencia en el control de escaldadura mediante la utilización de atmósfera controlada (AC) depende del cultivar, de la región (Chen et al., 1985), de la madurez inicial de la fruta, de la demora en la generación de la AC (Whitaker y Solomos, 1997), entre otros factores (Soria y Recasens, 1997; Lurie y Watkins 2012), pero en todos los casos, los bajos niveles de O₂ retrasan y reducen la acumulación de α -farnesenos, y reducen la acumulación de CTols y MHO (Whitaker, 2000). Los niveles menores a 2%, usualmente llamados ultra bajo oxígeno (ULO), y más aún, los niveles menores a 1%, son los más efectivos. La eficiencia de la AC se puede maximizar bajando los niveles de O₂ a valores cercanos al límite mínimo tolerado por la fruta, para lo cual es necesario monitorear y ajustar periódicamente el O₂ mediante sensores que detecten el estrés por bajo O₂. Este es el principio básico de la atmósfera controlada dinámica (ACD) (Prange et al., 2005). El estrés inicial de bajo O₂ (ILOS) consiste en provocar en el fruto una situación de estrés inicial debido al contenido muy bajo de O₂ y/o de alto CO₂. Este estrés inicial inhibe la acumulación de α -farneseno y trienos conjugados en la piel del fruto (Soria y Recasens, 1997). Se obtuvieron buenos resultados en manzanas “Granny Smith” (Little et al., 2000; Wang y Dilley, 1999, Zanella, 2003), en manzanas “Topred” (Van der Merwe et al., 1997) y en peras “Beurré d’Anjou” (Calvo et al., 2002). Así mismo, Wang y Dilley (1999) comprobaron que un tratamiento ILOS seguido de conservación en ULO brindó mejores resultados que cuando se utilizó sólo ULO. Sin embargo, Lau (1997b) encontró que el ILOS no mejoró el control de escaldado. La aplicación de un estrés inicial de bajo O₂ a 20 °C, previo al almacenamiento en frío convencional es efectiva para reducir el escaldado en manzanas “Granny Smith” (Ghahramani y Scott, 1998; Pesis et al., 2007).

Inhibición de la síntesis o de la acción del etileno: La aminoetoxivinilglicina (AVG) es un potente inhibidor de la actividad ACC sintetasa, que previene la formación del ácido 1-amino-ciclopropano carboxílico (ACC), precursor natural del etileno (McGlasson, 1985). La aplicación comercial de AVG (Retain®), al reducir la producción de etileno, redujo el escaldado en manzanas (Lawes, 1998, Mir et al., 1999b; Dussi et al., 1998). El tratamiento de los frutos 1-metilciclopropeno (1-MCP) (SmartFresh®, AgroFresh, Spring House, PA) inhibe el desarrollo del escaldado superficial en manzanas (Fan et al., 1999; Rupasinghe et al., 2000a; Watkins et al., 2000; Candan y Calvo, 2002; Watkins et al., 2015), en peras Europeas (Calvo y Kupferman, 2012; Lurie y Watkins, 2012, Chiriboga et al., 2014; Calvo et al., 2015) y en peras asiáticas (Li y Wang, 2009; Yazdani et al., 2011). El grado de inhibición de escaldado obtenido con 1-MCP es dependiente del cultivar, tipo de almacenamiento (aire vs AC), y duración del mismo, entre otros factores (Fan et al., 1999; Watkins et al., 2000; Blankenship y Dole, 2003). El tratamiento de los frutos con 1-MCP inhibe la síntesis de α -farneseno (Fan y Matheis, 1999; Zanella, 2003). Se demostró que existe una regulación negativa del etileno y de la expresión de uno o más genes en la ruta biosintética del α -farneseno (Lurie et al., 2005). Rupasinghe et al., (2001) demostraron que el 1-MCP reduce la acumulación de α -farneseno y la actividad de la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMGR), afectando la expresión de los genes *hmg1* y *hmg2* sensibles al etileno. Se demostró también que el 1-MCP provoca una disminución de la producción de los compuestos trieno conjugados mediante la

inhibición de la expresión de PcAFS1 dependiente del etileno (Gapper et al., 2006). Los efectos del 1-MCP en la actividad de enzimas antioxidantes no son consistentes. Algunos autores sostienen que el 1-MCP incrementa la actividad de enzimas antioxidantes en la piel del fruto (Larrigaudière et al., 2004; Isidoro y Almeida, 2006; Chiriboga et al., 2013). Por el contrario, en peras asiáticas se han observado actividades de las enzimas CAT y POX inferiores en fruta tratada con 1-MCP, mientras que la actividad de la SOD no se ve afectada (Yazdani et al., 2011). El tratamiento 1-MCP en algún caso, como en pera ‘Blanquilla’, también se ha asociado con menores niveles de ácido ascórbico (Larrigaudière et al., 2004), mientras que en otros casos como en pera “Rocha” (Isidoro y Almeida, 2006), el tratamiento no afecta los niveles de ácido ascórbico ni de glutatión, lo que permite mantener la capacidad antioxidante de la fruta durante diferentes periodos de conservación en frío. Las poliaminas putrescina (PUT), espermidina (SPD) y espermina (SPM) tienen acción antisenescente, probablemente debido a su capacidad de unirse a los compuestos aniónicos de la membrana celular, protegiéndola contra la peroxidación lipídica. Asimismo, como los daños por frío están relacionados con la pérdida de la integridad de la membrana celular, las poliaminas reducen estos desórdenes (Serrano et al., 1996). Las poliaminas y el etileno tienen un intermediario en común en su ruta de biosíntesis, la S-adenosilmetionina o SAM, por lo cual podrían reducir la síntesis de etileno por competencia por este precursor en común. El efecto de las poliaminas sobre la reducción de etileno se ha visto en damascos (Martínez-Romero et al., 2002), duraznos (Bregoli et al., 2002), ciruelas (Serrano et al., 2003), kiwi (Petkou et al., 2004), mango (Malik y Singh, 2005), manzanas (Kramer et al., 1991; Pang et al., 2006) y peras (Kakkar y Rai, 1993). Sin embargo, hay escasos antecedentes sobre el efecto de las poliaminas en el desarrollo del escaldado superficial en peras y manzanas.

1.5. Relevancia de la investigación realizada

Argentina es el mayor exportador mundial de peras con una participación del 18% sobre el volumen total exportado. Disponer de un producto de calidad en contra estación supone una ventaja importante frente a las producciones del hemisferio norte. Los mercados de destino demandan frutas de calidad y su legislación es cada vez más exigente respecto al nivel de residuos permitidos en los frutos. Para mantener estos mercados, es fundamental adecuarse a estas exigencias. La desaparición gradual de los antiescaldantes tradicionales (DPA y etoxiquina) plantea retos para el control del escaldado, que implica encontrar nuevas estrategias inocuas para los consumidores y el medio ambiente.

Los trabajos que se realizaron en esta tesis, especialmente los que se refieren a la definición de nuevas estrategias de control, son por lo tanto de gran relevancia para afrontar esta nueva situación. Los ensayos permitieron analizar los posibles beneficios que podrían resultar de la aplicación en pera “Beurré d’Anjou” de los métodos alternativos utilizados en otras especies o variedades. Se debe tener en cuenta que la variedad y las condiciones de crecimiento del cultivo, entre otros, influyen significativamente en el comportamiento de los frutos durante el almacenamiento y en su susceptibilidad a los diferentes desórdenes fisiológicos. Por ello, las investigaciones se realizaron en la zona de cultivo, para conocer las respuestas del escaldado de peras “Beurré d’Anjou” de esta región a los métodos alternativos de prevención. Se evaluaron métodos alternativos, como la aplicación de inhibidores de la acción del etileno (1-MCP), el almacenamiento en atmósferas controladas y tratamientos físicos, optimizando aquellos que resultaron ser los más efectivos. Este conocimiento es necesario para

validar las prácticas actuales y orientar a las emparadoras frutícolas hacia la utilización más segura de estas tecnologías.

Se tiene que destacar finalmente el impacto que tiene esta tesis en el ámbito científico. Actualmente los conocimientos acerca de las bases bioquímicas del escaldado en peras son escasos, lo que se asocia con la aparición de problemas importantes en los empaques frutícolas. Esta tesis aporta información relevante en cuanto a la relación escaldado-madurez inicial (fecha de cosecha), pero también sobre las relaciones existentes en peras entre escaldado y síntesis de etileno, metabolismo del α -farneseno y el papel de los antioxidantes endógenos. Esta nueva información es de gran interés para entender mejor las especificidades del escaldado en el ‘modelo pera’ y es de gran relevancia para orientar las futuras investigaciones en el desarrollo de nuevos sistemas de control.

1.6. Hipótesis y objetivos

Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente, se plantearon las siguientes hipótesis y objetivos:

Hipótesis:

La influencia de factores asociados al escaldado superficial (etileno, acumulación de α -farneseno y trienos conjugados, potencial antioxidante, madurez a cosecha y variedad) es diferente en peras que en manzanas.

Es posible controlar el escaldado superficial de peras mediante la adaptación de sistemas de control de escaldado utilizados en manzanas.

Objetivo General:

Determinar los mecanismos fisiológicos y bioquímicos implicados en el desarrollo del escaldado superficial en peras “Beurré d’Anjou” y desarrollar sistemas de control específicos mediante estrategias alternativas al uso de antiescaldantes tradicionales.

Objetivos específicos:

1. Evaluar la relación existente entre el estado de madurez de los frutos y la susceptibilidad al desarrollo del escaldado superficial en peras “Beurré d’Anjou”.
2. Determinar la incidencia del factor varietal en el desarrollo del escaldado superficial y de esta forma las especificidades de las peras “Beurré d’Anjou”
3. Establecer el rol de los antioxidantes endógenos en el desarrollo de escaldado superficial en peras “Beurré d’Anjou”.
4. Evaluar la eficacia de métodos de control del escaldado alternativos al uso de antiescaldantes tradicionales.
5. Optimizar los métodos de control caracterizados para una posible aplicación comercial.

La tesis se organizó en dos partes. La primera parte, constituida por los capítulos 2, 3 y 4 está enfocada en definir la etiología de esta fisiopatía de acuerdo con los tres primeros objetivos específicos. La segunda parte, constituida por los capítulos 5, 6 y 7 se enfoca en el desarrollo de alternativas de control (objetivos específicos 4 y 5).

**PARTE I: ETIOLOGIA DEL ESCALDADO SUPERFICIAL EN PERAS
'BEURRE D' ANJOU'**

CAPITULO 2.

Relación del escaldado superficial con el estado de madurez

2.1. Introducción

El escaldado superficial es el resultado de un proceso oxidativo, y se acepta que la severidad del mismo es proporcional al grado de oxidación del AF. Asimismo, se ha observado que si el contenido de antioxidantes del fruto se mantiene suficientemente elevado durante el almacenamiento, la oxidación del AF no ocurre o es limitada y no se desarrolla escaldado. Por lo tanto, el equilibrio entre el contenido de especies oxidativas y la capacidad antioxidante de la piel de los frutos tiene un rol importante en el desarrollo y la progresión del escaldado superficial en manzanas y peras (Rao et al., 1998; Zubini et al., 2007; Silva et al., 2010).

Los conocimientos actuales sobre el mecanismo bioquímico responsable del desarrollo del escaldado han demostrado que manzanas y peras siguen un camino similar (Rowan et al., 2001; Isidoro y Almeida, 2006; Whitaker, 2007; Zubini et al., 2007). Sin embargo, existen algunas diferencias respecto a la producción de etileno y el contenido de antioxidantes que podrían estar relacionadas con la diferente susceptibilidad de ambos frutos para desarrollar escaldado superficial. La mayoría de las variedades de manzanas producen etileno después de la cosecha, mientras que la mayoría de las peras, incluyendo “Beurré d’Anjou”, requieren la exposición a bajas temperaturas para iniciar la producción autocatalítica de etileno (Abeles et al., 1992). En relación al contenido de antioxidantes totales, las peras presentan normalmente un menor contenido de antioxidantes que las manzanas (Leontowicz et al., 2003).

La madurez y la fecha de cosecha tienen una influencia significativa en el desarrollo de escaldado en manzanas, observándose una mayor susceptibilidad a esta fisiopatía cuanto más precoz haya sido la cosecha (Anet, 1972; Wang y Dilley, 1999). Este comportamiento ha sido asociado a la menor actividad del sistema antioxidante de la epidermis en frutos inmaduros (Barden y Bramlage, 1994), pero también a cinéticas de acumulación de los productos de oxidación del α -farneseno más rápidas (Anet, 1972). Tal es así, que la realización de cosechas tardías se utiliza como medida preventiva del escaldado superficial en variedades de manzana muy sensibles. Sin embargo, la relación entre el estado de madurez y la susceptibilidad de los frutos al escaldado ha sido poco documentada en peras, y parece ser menos predecible que en manzanas (Salunkhe y Desai, 1984; Zoffoli et al., 1998; Whitaker et al., 2009).

En consecuencia, el objetivo de este trabajo fue determinar la relación existente entre el estado de madurez a la cosecha en peras “Beurré d’Anjou” y la susceptibilidad al escaldado superficial. Para este propósito, se cosecharon frutos en distintos estados de madurez y se determinaron los cambios en la producción de etileno, la acumulación de α -farnesenos y trienos conjugados y la capacidad antioxidante durante el almacenamiento, en relación con la incidencia de escaldado superficial.

2.2. Materiales y métodos

Material vegetal y condiciones de almacenamiento

Se utilizaron peras “Beurré d’Anjou” (*Pyrus communis* L.) provenientes de una chacra comercial ubicada en la localidad de Guerrico (39° 01' S, 67° 44' O), Alto Valle de Río Negro, Argentina. Las plantas, de 10 años de edad, sobre portainjerto franco, fueron conducidas en espaldera, con un espaciamiento de 4 m x 2 m. En el año 2013 se

realizaron tres fechas de cosecha: el 24 de enero (H₁); 7 de febrero (H₂) y 21 de febrero (H₃). Los frutos cosechados fueron trasladados inmediatamente al laboratorio del Área Postcosecha del INTA Alto Valle. Frutos de tamaño homogéneo y libres de defectos se embalaron en cajas de cartón con dos bandejas (20 frutas cada una) y bolsa de polietileno de baja densidad de 20 µm sin perforar. La fruta se conservó en frío convencional a -0,5 °C y 95% HR durante 240 días.

Determinaciones de madurez

La madurez al momento de la cosecha se determinó en cada fecha sobre 5 repeticiones de 10 frutos cada una. La firmeza de la pulpa (N) se determinó con un penetrómetro electrónico (FTA-GS14, Güss, Sudáfrica), dotado de un embolo de 8 mm de diámetro. Se removieron 2 mm de espesor de la piel en puntos opuestos del plano ecuatorial del fruto y se realizaron dos medidas de firmeza, utilizando el valor promedio. Para determinar los sólidos solubles totales (SST) y la acidez titulable (AT), se retiró una sección longitudinal de cada fruto, de la cual se extrajo el jugo, realizando las determinaciones con el jugo de los 10 frutos de cada repetición. Los SST (%) se analizaron con un refractómetro digital (PAL1, Atago, Japón) y la AT (g L⁻¹) se determinó por titulación de 10 mL del jugo con NaOH 0,1 N hasta pH 8,2, utilizando un pH metro calibrado. El color de la epidermis se determinó con un colorímetro (CR-400, Minolta, Japón). La cromaticidad fue obtenida en las coordenadas espaciales del color CIELAB (L*, a*, b*) y se calculó el ángulo hue como tg⁻¹ (b*/a*). La degradación de almidón (%) se realizó tomando una rodaja de 1-1,5 mm de espesor de la zona ecuatorial de cada fruto y se introdujo en una solución de lugol (10 g de yoduro de potasio y 5 g de yodo en 1000 mL de agua destilada). Esta solución queda retenida en las zonas del fruto donde hay presencia de almidón dando lugar a un dibujo que permite establecer el porcentaje de degradación de almidón por comparación con tablas varietales específicas para este cultivar (Candan y Calvo, 2000). Se determinó el peso promedio de los frutos (g), mediante la utilización de una balanza electrónica de precisión.

Producción de etileno

La producción de etileno se determinó sobre 5 repeticiones de 1 fruto después de 0, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 210 y 240 días a -0,5 °C y durante 30 días de vida en estante a 20 °C después de cada salida. Cada fruto se encerró herméticamente en un frasco de 1,5 L durante 30 minutos. Después de ese periodo de tiempo, se extrajo una muestra de 1 mL de aire del espacio de cabeza con una jeringa. La muestra se analizó en un cromatógrafo de gases (GC14-A, Shimadzu, Japón) equipado con un detector FID, columna de alúmina activada e inyector a una temperatura de 240°C, 40°C y 110°C, respectivamente. Se utilizó helio como gas transportador. Una vez establecidas las cinéticas de producción de etileno a 20 °C, se determinaron las variables “demora” (tiempo en días requerido para que los frutos comenzaran a producir valores de producción superiores a 1 nL g⁻¹ h⁻¹), “climaterio” (tiempo en días requerido para alcanzar la máxima producción de etileno) y “magnitud” del climaterio en nL g⁻¹ h⁻¹.

Desarrollo de escaldado superficial

El escaldado se determinó sobre 5 repeticiones de 10 frutos cada una después de 120, 180, 210 y 240 días a -0,5 °C y 7 días a 20 °C. Se determinó la incidencia y la severidad de forma visual. La incidencia se expresó como el porcentaje de fruta afectada y la severidad se clasificó según los siguientes grados: Grado 1 (leve): menos de 25% de

la superficie total del fruto con manchas; Grado 2 (moderado): más del 25% y menos del 50% de la superficie total del fruto con mancha; Grado 3 (severo): más del 50% y menos del 75% de la superficie total del fruto con manchas; Grado 4 (muy severo): más del 75% de la superficie total del fruto con manchas (Fotografía 2.2.1).

Se calculó el índice de escaldado superficial (IES) utilizando la siguiente fórmula (Pesis et al., 2009):

$$\text{IES} = \frac{\sum (\text{grado de severidad}) \times (\text{cantidad de frutos por grado})}{\text{N}^\circ \text{ total de frutos}}$$



Fotografía 2.2.1. Severidad de Escaldado Superficial según el porcentaje de la superficie del fruto afectada por manchas.

Contenido de α -farnesenos (AF) y trienos conjugados (CTols)

Las determinaciones de AF y CTols se realizaron siguiendo el método descrito por Anet (1972) con algunas modificaciones. En 10 repeticiones de un fruto cada una, se extrajo una tira de piel de 2 mm de espesor de la zona ecuatorial de los frutos, de la cual se sacaron 5 discos de 10 mm de diámetro con un sacabocado. Los discos fueron sumergidos en 10 mL de hexano de grado HPLC durante 10 minutos, con agitación. Se diluyó 1 mL de la solución del extracto de cada fruto en 4 mL de hexano puro. Los análisis de AF y CTols se realizaron después de 0, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 días en -0.5°C . Las mediciones espectrofotométricas se realizaron entre 190 y 300 nm de longitud de onda con un UV-espectrofotómetro (1001- Plus, Milton Roy, EEUU) previa calibración del equipo con hexano puro. Los AF se cuantificaron a 232 nm (DO_{232}), utilizándose un coeficiente de extinción de $E_{232} = 27,700$. Los CTols fueron registrados como $\text{CT}_{281} = \text{DO}_{281-290}$, utilizando un coeficiente de extinción promedio $E = 25,000$. Ambos compuestos se expresaron como nmol cm^{-2} de área de la piel del fruto.

Capacidad antioxidante total (DPPH)

La capacidad antioxidante total se determinó utilizando el método del DPPH. Las determinaciones se realizaron con 5 repeticiones de 10 frutos después de 0, 15, 30, 60, 90, 120, 180 y 240 días a $-0,5^\circ \text{C}$. La totalidad de la piel de los 10 frutos de cada repetición fue extraída, congelada con nitrógeno líquido, liofilizada y molida con molinillo hasta obtener un polvo que se homogeneizó después con 10 ml de solución 80:20 metanol:agua (v/v). Las muestras se dejaron durante 2 h a temperatura ambiente en un baño de agitación constante y se centrifugaron a 20°C (24.000 g) durante 15 min. El sobrenadante obtenido se filtró, se diluyó con agua Milli-Q (1:4; v/v). Una alícuota

de 20 μL del extracto diluido se mezcló con 980 μL de 1-difenil-2- picrilhidrazil (DPPH; Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania) y se agitó en la oscuridad durante 30 min a 4 °C. La absorbancia inicial (A_i) se midió a 517 nm en el blanco (agua bidestilada) y la absorbancia final (A_f) se midió después del período de incubación usando un UV-espectrofotómetro (1001 Plus, Milton Roy, EE.UU.) previa calibración del equipo con agua bidestilada. El porcentaje de inhibición (%) se calculó con la siguiente fórmula: $(A_i) - (A_f) / (A_i) \times 100$. En estas condiciones, un aumento en el porcentaje de inhibición de la oxidación de DPPH corresponde a un aumento en la actividad antioxidante total presente en la muestra.

Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) utilizando el software INFOSTAT Profesional / versión 2006p.1. La separación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey con un nivel de significación del 0,05 (valores de p).

Se realizó un análisis de componentes principales considerando las variables DPPH, AF, TC y IES para cada fecha de cosecha y de evaluación. Se utilizaron como variables de clasificación las fechas de cosecha y el tiempo de almacenamiento a -0,5°C. Se realizó además un análisis de regresión para determinar la influencia de la fecha de cosecha.

2.3. Resultados

Estado de madurez a cosecha

A los largo de los muestreos, se observa el progreso de la maduración de los frutos, que aumentaron su tamaño (26,9 g de H_1 a H_3), perdieron firmeza (16,5 N), acidez (1,9 g L^{-1}) y color verde (1,6 Hue). A su vez, el almidón se degradó (34,5%), lo que se vio reflejado en el incremento de los sólidos solubles (0,8%) (Cuadro 2.3.1).

De acuerdo a todos los índices determinados, los frutos de H_1 estaban significativamente menos maduros que H_3 , mientras H_2 mostró una madurez intermedia aunque generalmente con valores más cercanos a los de H_3 . El contenido de antioxidantes totales (DPPH) en la piel al momento de la cosecha fue significativamente menor en fruta H_1 y H_2 (19,4% y 18,2%, respectivamente) que en frutos H_3 (30%), (Cuadro 2.3.1).

Cuadro 2.3.1. Índices de madurez (firmeza, sólidos solubles (SST), acidez titulable (AT), color, degradación de almidón y peso) y capacidad antioxidante total (DPPH) de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 24 de enero (H_1); 7 de febrero (H_2) y 21 de febrero (H_3). Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes, Tukey $\alpha=0,05$.

Cosecha	Firmeza (N)	SST (%)	AT (g/l)	Color (Hue)	Degr. Almidón (%)	Peso (g)	DPPH (%)
H_1	71,2 a	10,4 b	4,8 a	118,5 a	12,5 b	158,7 b	19,4 b
H_2	63,2 b	11,0 a	3,4 b	118,2 a	35,6 a	176,9 a	18,2 b
H_3	54,8 c	11,2 a	2,9 c	116,9 b	47,0 a	185,6 a	30,0 a
p-valor	<0,0001	0,0003	<0,0001	0,0289	0,0003	0,0146	<0,0001

Producción de etileno

Para todas las fechas de cosecha, la producción de etileno fue indetectable al momento de cosecha y después de 15, 30 o incluso 60 días de almacenamiento a bajas temperaturas (datos no presentados). Los frutos H₁ requirieron 120 días a bajas temperaturas y 28 días a 20 °C para iniciar la producción de etileno, mientras que en frutos de H₂ y H₃ esta inducción se produjo después de 90 días de almacenamiento en frío, y 15 y 10 días a 20 °C respectivamente. A partir de los 210 días de almacenamiento, los frutos de todas las cosechas estaban produciendo etileno al salir de la cámara, sin un período de demora. Después de 120 y 180 días de almacenamiento, el número de días necesarios para alcanzar el pico climatérico fue mayor en H₁ que en las cosechas posteriores (Cuadro 2.3.2). Estos resultados concuerdan con los análisis de madurez llevados a cabo en cosecha (Cuadro 2.3.1) y confirman también las diferencias de madurez que se observaron entre las diferentes fechas de recolección. Según estos datos, los frutos H₁ estaban fisiológicamente menos maduros que los frutos de las cosechas posteriores.

Cuadro 2.3.2. Tiempo hasta empezar a producir etileno (demora), tiempo hasta alcanzar el climaterio (climaterio) y magnitud del climaterio (magnitud) de peras “Beurré d’Anjou” después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes, Tukey $\alpha=0,05$

Etileno	Cosecha	Tiempo de almacenamiento (días)				
		90	120	180	210	240
Demora (días)	H ₁	nd	28 a	5 a	0	0
	H ₂	15 a	6 b	2 b	0	0
	H ₃	10 a	6 b	2 b	0	0
	p-valor	0,1083	0,0018	0,0004	-	-
Climaterio (días)	H ₁	nd	nd	11 a	9 a	8 b
	H ₂	23	14 a	9 b	8 a	7 b
	H ₃	17	12 a	9 b	10 a	9 a
	p-valor	0,1242	0,0096	<0,0001	0,5364	0,0138
Magnitud (nl g ⁻¹ h ⁻¹)	H ₁	nd	nd	55 a	47 a	43 a
	H ₂	39	37	37 a	35 a	43 a
	H ₃	21	58	33 a	28 a	51 a
	p-valor	0,2773	0,1077	0,0548	0,1023	0,4815

nd: no detectable durante los 30 días de vida en estante (20 °C).

Escaldado superficial

No se observaron síntomas de escaldado superficial en la evaluación realizada inmediatamente después de la salida de la cámara (datos no presentados). Después de 120 y 180 días de almacenamiento en frío y 7 días a 20 °C, se observaron diferencias significativas entre las diferentes fechas de cosecha ($p < 0,0001$). Las peras de madurez más avanzada demostraron ser más sensibles al escaldado que las de cosecha temprana. Después de 120 días de almacenamiento en frío + 7 días a 20 °C, los frutos H₁ no manifestaron síntomas de escaldado, mientras que la fruta de las cosechas H₂ y H₃ presentaron una incidencia de 70 y 98%, respectivamente (Figura 2.3.1, Cuadro 2.3.3). Se observaron resultados similares después de 180 días de almacenamiento, en donde los frutos H₁ presentaron un porcentaje significativamente menor de escaldado (38%) (Figura 2.3.1), así como un menor índice de severidad (Cuadro 2.3.3).

Por consiguiente, estos resultados demuestran que la incidencia de escaldado superficial está claramente relacionada con la madurez de los frutos a la cosecha y con la capacidad de producción de etileno de los frutos. En este sentido los días de demora para iniciar la producción de etileno y no los días para llegar al máximo de producción de etileno podrían utilizarse como indicadores de la sensibilidad de los frutos al escaldado. A partir de 210 días de almacenamiento la escaldadura superficial afectó a más del 90% de los frutos de todas las cosechas sin diferencias significativas (Figura 2.3.1).

Cuadro 2.3.3. Índice de escaldado superficial (IES) de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 24 de enero (H₁); 7 de febrero (H₂) y 21 de febrero (H₃), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey $\alpha=0,05$

Cosecha	Tiempo de almacenamiento (Días)			
	120	180	210	240
H ₁	0,0 c	0,7 b	2,5 a	2,9 b
H ₂	1,1 b	2,8 a	2,9 a	3,6 a
H ₃	2,8 a	2,8 a	2,8 a	3,4 a
p-valor	<0,0001	<0,0001	0,2640	0,0039

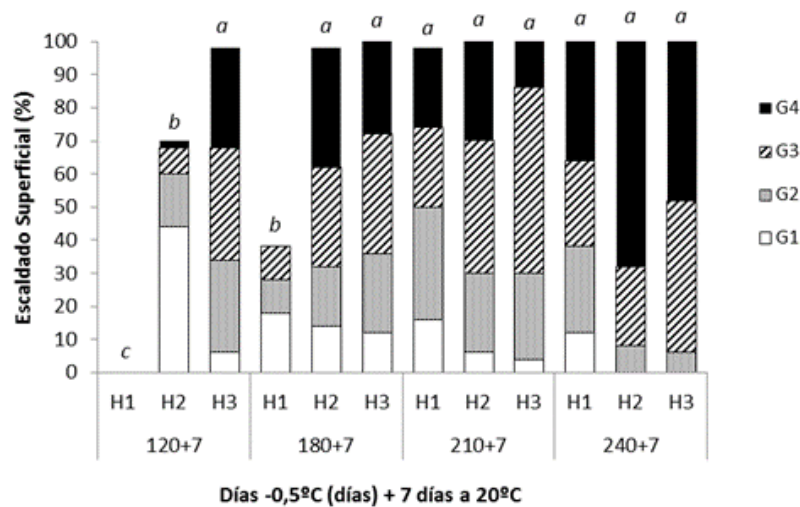


Figura 2.3.1. Incidencia (% de fruta afectada) y severidad (G1, G2, G3, G4) de escaldado superficial de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 24 de enero (H₁); 7 de febrero (H₂) y 21 de febrero (H₃) después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey $\alpha=0,05$

Contenido de α -farnesenos (AF) y trienos conjugados (CTols)

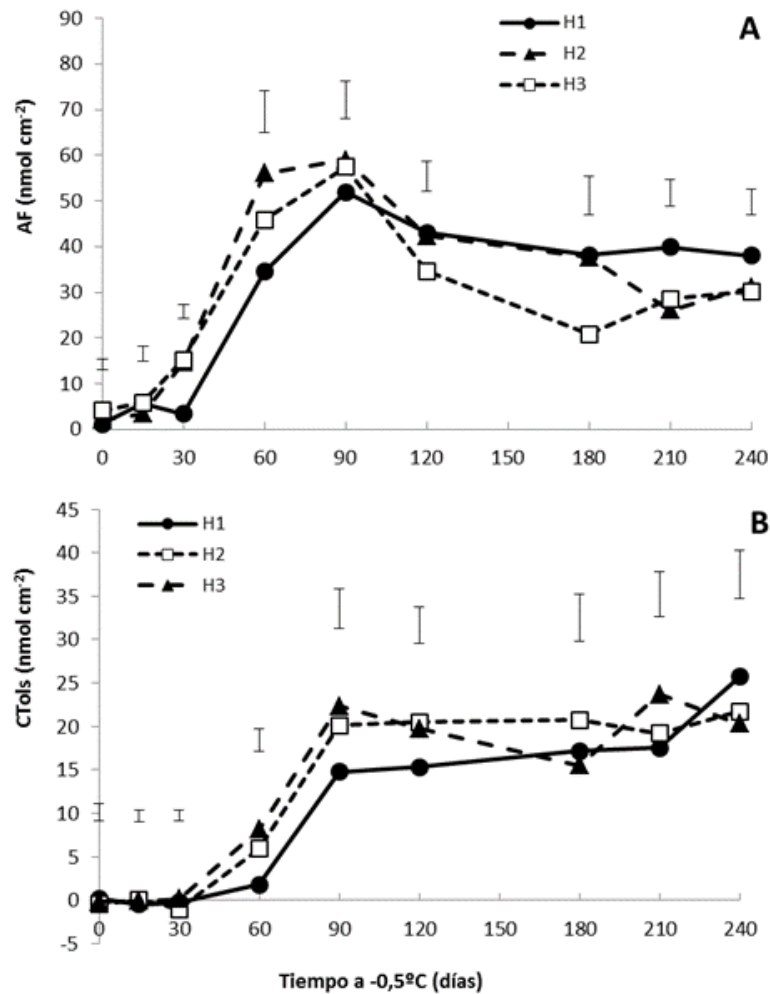


Figura 2.3.2. Contenido de α -farnesenos (A) y trienos conjugados (B) en la piel de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 24 de enero (H₁); 7 de febrero (H₂) y 21 de febrero (H₃) después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el DE de las medias ($p < 0,05$).

Los niveles de α -farnesenos detectados en los tejidos de la piel al momento de la cosecha fueron bajos, pero aun así se observaron diferencias significativas entre los frutos H₁ (1,20 nmol cm⁻²) y H₃ (4,14 nmol cm⁻²). Los frutos H₂ y H₃ comenzaron a acumular α -farnesenos a partir del día 15, mientras que la fruta H₁ inició esta acumulación sólo después de 30 días de almacenamiento en frío. Los niveles de AF para las tres fechas de cosecha aumentaron hasta los 90 días de almacenamiento, para disminuir después, especialmente en los frutos de H₃ (Figura 2 A). Se observaron niveles muy bajos de CTols (menores a 1 nmol cm⁻¹) hasta los 30 días de almacenamiento, con independencia de la fecha de cosecha. Los frutos de H₁ acumularon cantidades significativamente menores de CTols entre los 60 a 120 días de almacenamiento en comparación con la fruta cosechada más tarde (H₂ y H₃).

Capacidad antioxidante total (DPPH)

Respecto al momento de la cosecha, la capacidad antioxidante de las frutas fue mayor en el caso de cosechas tardías (H₃) que para las cosechas más tempranas (H₁ y H₂; Cuadro 2.3.1 y Figura 2.3.3). A pesar de las diferencias encontradas en la cosecha, la capacidad antioxidante de la piel aumentó, para todas las cosechas, en respuesta al almacenamiento en frío y alcanzó valores máximos después de 120 días de almacenamiento, disminuyendo en general a medida que se prolongaba el almacenamiento. La disminución más pronunciada de capacidad antioxidante hacia el final del almacenamiento se observó en frutas de la última cosecha (H₃).

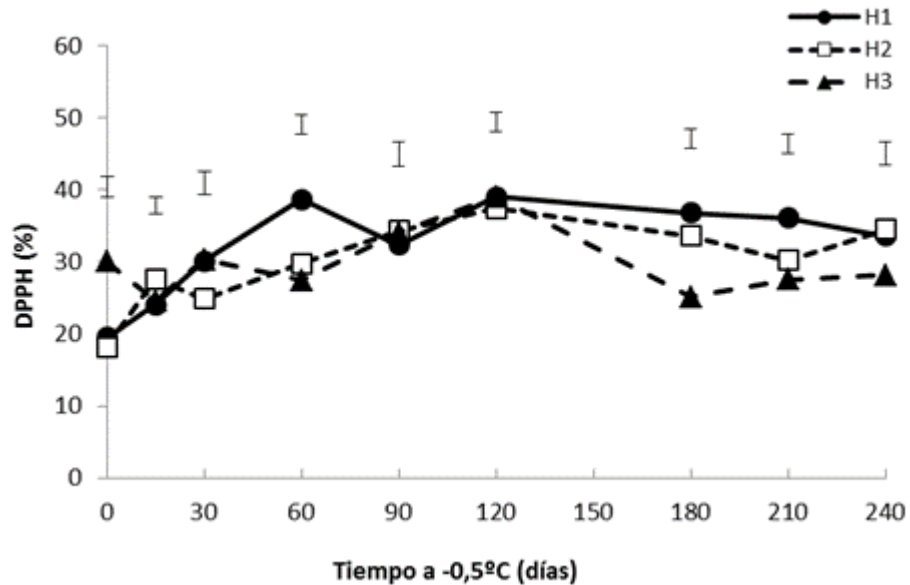


Figura 2.3.3. Cambios en la capacidad antioxidante (% de inhibición) en la piel de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 24 de enero (H₁); 7 de febrero (H₂) y 21 de febrero (H₃) después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el DE de las medias ($p < 0,05$).

Este análisis de componentes principales presentó una correlación cofenética alta (0,973) y permitió explicar el 87% de los casos. Este análisis nos permite determinar que el 62% de la variabilidad total está explicada por CP1. La mayor correlación se observa en el índice de escaldado (IES), y los TC presentan una alta correlación. La variable con mayor participación en la CP1 (62,4%) fue el contenido de TC, el cual mostró un vector positivo con un valor de 0,59. Con respecto al CP1, se observa que todos los vectores tienen un valor positivo y permite separar entre el grupo rojo (izquierda) y el grupo azul y verde (derecha). Al observar los datos (Figura 2.3.4) se ve que los resultados agrupados a la izquierda del eje 1 son los de menor sensibilidad al escaldado, mientras que los de la derecha corresponden a los de mayor sensibilidad, siendo la variable días de conservación la que separa estos dos grupos. En el grupo rojo se encuentran los puntos correspondientes a las 3 fechas de cosecha hasta los 60 días de conservación. Mientras que a la derecha se encuentran los puntos de 120 días de conservación en adelante. En cambio, en la CP2 se observa que las variables IES y TC son positivas mientras que DPPH y AF son negativas. Esto indica una relación directa entre IES y TC, mientras que la relación entre el DPPH y AF indicarían lo mismo. El índice de escaldado y los AF son independientes. El CP2 separa los grupos que son sensibles al escaldado. El 83% de esta componente está representado por el índice de

escaldado. En la parte inferior (grupo verde) se encuentran los puntos de menor sensibilidad. Tienen DPPH y AF, pero bajo índice de escaldado. La mayoría de los puntos de este grupo son de cosecha 1, hay 2 puntos de cosecha 2 (90 y 120 días) y uno solo de cosecha 3 (90 días). En la parte superior (grupo azul) están los puntos de mayor sensibilidad al escaldado. Son las fechas de evaluación de 210 días en adelante.

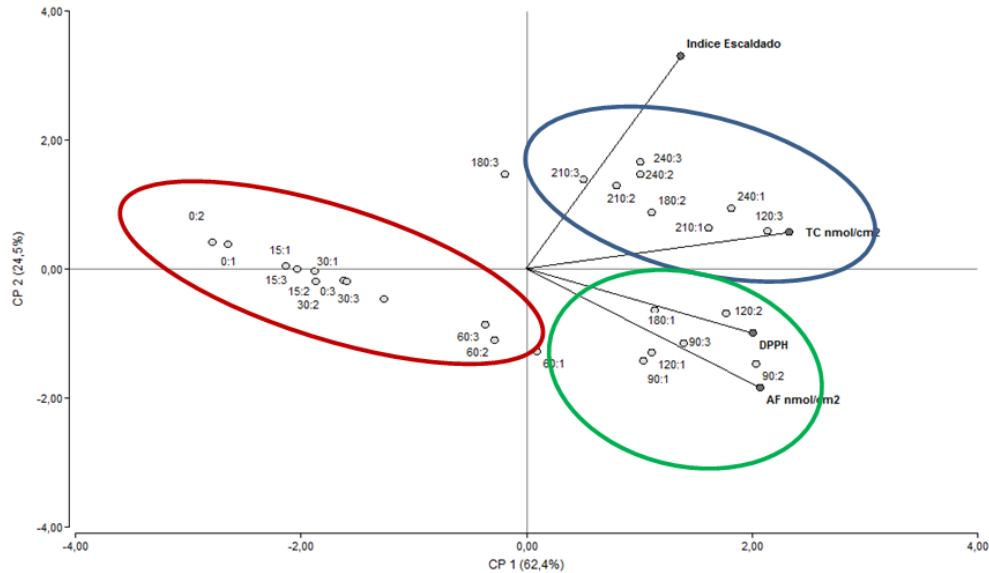


Figura 2.3.4. Distribución de los puntos según tiempo de almacenamiento y madurez de cosecha y vectores dentro del espacio de las componentes principales.

Al considerar la alta correlación que se observó entre los TC y el índice de escaldado, se realizó un análisis de regresión para determinar la influencia de la fecha de cosecha (Figura 2.3.5).

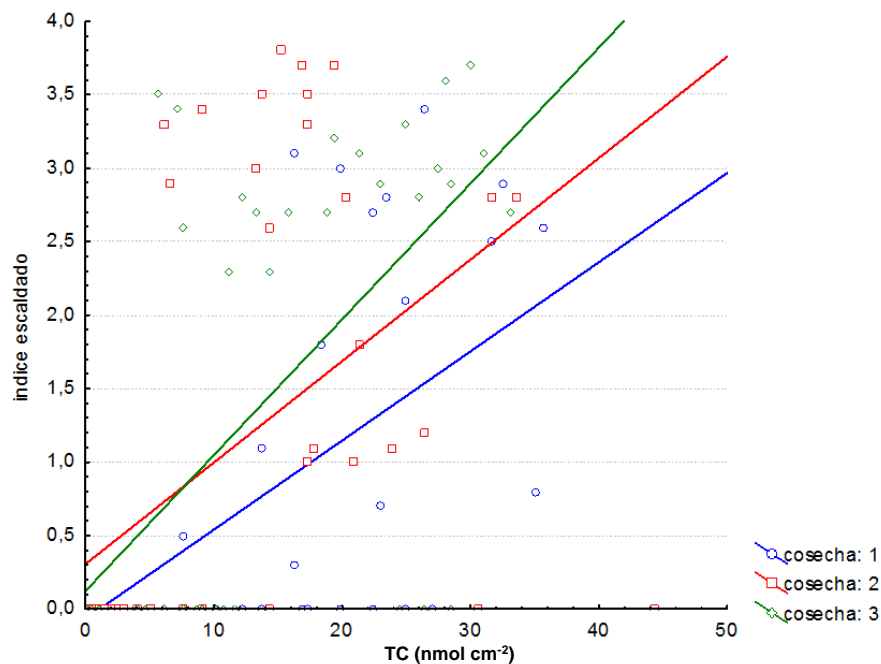


Figura 2.3.5. Regresión entre el contenido de trienos conjugados (nmol cm^{-2}) y el índice de escaldado superficial para cada fecha de cosecha.

Con respecto a la madurez a cosecha, el mayor valor de pendiente de la cosecha 3 ($y = 0,1234 + 0,0924x$; $r^2 = 0,5060$) permite determinar que los frutos de esta cosecha tuvieron una mayor tasa de desarrollo de escaldado. Es decir que por cada incremento del valor de TC, el índice de escaldado se incrementó 0,09 en los frutos de esta cosecha. Los frutos de las cosechas 1 ($y = -0,0658 + 0,0606 x$; $r^2 = 0,4678$) y 2 ($y = 0,3068 + 0,069x$; $r^2 = 0,3068$) tuvieron pendientes menores, y similares entre sí. A su vez, el valor de origen más bajo en la cosecha 1, respecto de las cosechas 2 y 3, explicaría la demora en la aparición de escaldado en los frutos de esta cosecha.

2.4. Discusión

El estado de madurez al momento de la cosecha: un indicador de la sensibilidad al escaldado en pera “Beurré d’Anjou”

En la región de Alto Valle las peras “Beurré d’Anjou” alcanzan la madurez fisiológica alrededor del 25 de enero, cuando el fruto cuenta con un promedio de 129 días, la firmeza de la pulpa llega a 69-73 N, los sólidos solubles superan 10-11%, el ácido málico es 3,5-4 g L⁻¹ y el almidón es degradado en un 20-25% (Benítez, 2001). Teniendo en cuenta estos valores de referencia regional, los frutos H₁ estaban aún ligeramente inmaduros con valores de firmeza aceptables y los frutos H₂ estaban dentro del rango de madurez comercial. Por último, los frutos de la última cosecha (H₃) estaban ligeramente sobre-maduros (Cuadro 2.3.1).

Está generalmente admitido que la relación entre etileno, el contenido de AF o CTol y el potencial antioxidante depende del estado de madurez y que afecta la susceptibilidad al escaldado superficial. En manzanas, estas relaciones explican por qué las frutas cosechadas temprano son más susceptibles al escaldado (Wang y Dilley, 1999). En peras, sin embargo, la relación entre la madurez y el escaldado es menos evidente. Si bien algunos investigadores han observado que las peras “Beurré d’Anjou” (Boonykiatet al, 1987; Zoffoli et al, 1998), “Packhams Triumph” (Tindale, 1967; Zoffoli et al, 1998) y “Rocha” (Isidoro y Almeida, 2006) presentan un comportamiento similar a la manzana (fruta menos madura, más propensa a desarrollar escaldado superficial), hay otros autores que encontraron resultados opuestos. Por ejemplo, Gamrasni et al. (2010) observaron que la incidencia de escaldado fue 49,3% y 5% después de 6 meses de almacenamiento en las peras “Spadona” cosechados con 48,1 N y 57 N, respectivamente. Asimismo, Raese y Drake (2000) en peras “Beurré d’Anjou”, y Bower et al. (2003) y Whitaker et al. (2009), en peras “Bartlett”, informaron de una mayor incidencia de escaldado en frutos cosechados más tarde.

En resumen, los resultados presentados en este trabajo muestran que la relación entre el escaldado y madurez en peras “Beurré d’Anjou” puede ser opuesta a la observada en manzanas. En este sentido, los frutos cosechados más temprano serían menos sensibles que aquellos cosechados con madurez más avanzada.

La relación entre el etileno, el contenido de α -farnesenos y trienos conjugados con el escaldado superficial

El patrón de acumulación de α -farnesenos observado en este ensayo fue similar al descrito para manzanas (Anet, 1972; Whitaker et al. 1997; Giné Bordonaba et al, 2013) y peras (Chen et al., 1990; Isidoro y Almeida, 2006; Whitaker et al., 2009), con bajos

valores iniciales que se incrementaron durante los 3 meses de almacenamiento y luego disminuyeron debido a su oxidación *in vivo* (Figura 2.3.2). De modo similar a lo que ocurre en manzanas, se admite que la incidencia de escaldado en peras es proporcional a la oxidación de los AF (Anet, 1972) y que los cultivares susceptibles son los que exhiben niveles más altos de CTols en la piel después de pocos meses de almacenamiento a bajas temperaturas (Chen et al., 1990; Whitaker et al., 1997; Gapper et al., 2006). En este trabajo, se observó que los CTols, y especialmente los AF, se acumularon más rápidamente en frutos de madurez avanzada (H₂ y H₃), lo cual se manifestó en una mayor incidencia y severidad de escaldado (Figuras 2.3.1 y 2.3.2).

A pesar de décadas de investigación, la manera por la cual la síntesis de AF es controlada a nivel molecular no está completamente elucidada. La enzima AFS₁ (α -farneseno sintasa) parece desempeñar un papel clave en la síntesis de la AF y su nivel de expresión ha sido claramente asociado a la producción de etileno en las manzanas (Pechous et al., 2005). Además, se demostró que no sólo la producción, sino también la percepción de etileno *per se* están involucrados en la regulación de la síntesis de AF y la inducción de escaldado en manzanas (Watkins et al., 1993; Whitaker et al., 1997; Ju y Curry, 2000). De hecho, es importante notar que en el presente estudio el aumento en el contenido de AF se produce cuando los frutos no eran aún capaces de producir cantidades detectables de etileno después de ser removidos del almacenamiento en frío (Cuadro 2.3.2). Por lo tanto, esto sugiere que la síntesis de AF en peras “Beurré d’Anjou” no dependería exclusivamente del etileno y que otros factores, tales como el almacenamiento a bajas temperaturas, podrían modular la síntesis de AF (Cuadro 2.3.2 y Figura 2.3.2). Al igual que ocurre en otras variedades de pera de invierno, el almacenamiento en frío podría producir cambios significativos a nivel de la percepción de etileno mediante el aumento de la expresión de receptores de etileno, tales como PcETR₁, PcETR₅ y PcERS₁ (El-Sharkawy et al., 2003; Chiriboga et al., 2013), que no afectarían directamente a la producción de etileno (Cuadro 2.3.2), pero que de alguna manera podría afectar la expresión AFS₁ a nivel molecular. En otro estudio, Pesis et al. (2009) demostraron usando manzanas transgénicas (antisentido para ACC sintasa o ACC oxidasa), que la reducción de la producción autocatalítica de etileno estaba relacionada con niveles más bajos de AF y también con una menor incidencia de escaldado superficial. Dado que la producción de etileno no fue totalmente suprimida, los autores no pudieron concluir si la síntesis de AF era debida a la producción de etileno residual o a la existencia de otros elementos reguladores. Gapper et al. (2006) llegaron a conclusiones similares después de detectar ciertos niveles de transcripción de Pc-AFS₁ en peras “Beurré d’Anjou” tratadas con 1-MCP que tenían niveles de producción de etileno indetectables. De este modo, es claro que son necesarios más estudios para evaluar la actividad o expresión de AFS a nivel enzimático o de transcripción en frutos almacenados en frío, de modo de tratar de explicar las diferencias en la susceptibilidad al escaldado en peras “Beurré d’Anjou”.

Niveles críticos de trienos conjugados

Otro factor a ser considerado para entender la etiología del escaldado superficial en pera está asociado a los valores críticos de CTols necesarios para desencadenar el desorden. Si bien estos valores nunca han sido claramente definidos (Gine Bordonaba et al., 2013), hay algunos estudios que cuantifican esta relación en peras. Chen et al. (1993) observaron que en las peras “Beurré d’Anjou” cultivadas en Hood River (EE.UU), el escaldado se produjo cuando el contenido de CTols era mayor de 2 nmol

cm⁻². En frutos de la misma variedad cultivados en la región del Alto Valle (Argentina), se definió un valor umbral de 20 nmol cm⁻² de CTols, por encima del cual se observaron síntomas de escaldado (Calvo y Candan, datos no publicados). En este ensayo, el escaldado se manifestó en frutos H₂ y H₃ después de 120 días de almacenamiento cuando el contenido CTols fue de 20,8 y 19,9 nmol cm⁻², respectivamente, y en los frutos H₁ después de 180 días cuando los niveles de CTols eran iguales a 16,8 nmol cm⁻² (Figura 2.3.2). Las diferencias observadas respecto a los valores de umbral de CTol entre los estudios pueden atribuirse a diferencias en la metodología utilizada por los distintos autores o bien a condiciones regionales de cultivo, pero lo cierto es que en ambos casos se ha observado un valor de CTols a partir del cual los frutos manifiestan escaldado. En este trabajo, aunque se encontraron niveles de CTols similares, la incidencia de escaldado fue muy diferente después de 180 días de almacenamiento (38% de incidencia en frutos H₁ frente a 95-100% en H₂ y H₃). Este resultado sugiere que una vez que se ha alcanzado el umbral, el escaldado progresa independientemente de los niveles de CTols y que otros compuestos tales como, por ejemplo, los antioxidantes pueden ser determinantes. Resultados similares fueron encontrados por Guerra et al., (2012) en pera “Rocha”.

Relación entre la capacidad antioxidante de los frutos y el escaldado superficial

El proceso oxidativo asociado con el escaldado y desencadenado por los CTols probablemente implique la actividad de varias especies reactivas de oxígeno (EROs), lo que conduce a la disrupción irreversible de membranas y otros componentes celulares (Rao et al., 1998; Isidoro y Almeida 2006; Whitaker, 2007; Zubini et al., 2007). En general se admite que las manzanas cosechadas más tarde son menos susceptibles al escaldado superficial y que esta diferencia podría atribuirse a un mayor contenido de antioxidantes (Barden y Bramlage, 1994). En concordancia, y a pesar de las diferencias conocidas en la capacidad antioxidante total entre manzanas y peras (Campanella et al, 2003; Leontowicz et al, 2003; García-Alonso et al, 2004), las peras de cosecha tardía (H₃) mostraron mayor contenido de antioxidantes en la cosecha, pero menor capacidad antioxidante hacia el final del almacenamiento junto con una mayor incidencia y severidad de escaldado (Figuras 2.3.1 y 2.3.3). Este resultado indica que el potencial antioxidante inicial no estaba directamente relacionado con la susceptibilidad de la fruta a desarrollar escaldado. Es por lo tanto probable, como se especifica en manzanas (Giné Bordonaba et al., 2013), que la protección contra el escaldado esté más relacionada con el contenido de uno, o más compuestos antioxidantes específicos que con el potencial antioxidante total del fruto. No existen aún evidencias experimentales de si la acumulación de antioxidante particular es beneficiosa para prevenir la aparición de escaldado superficial en peras “Beurré d’Anjou”. Sin embargo, estos resultados preliminares indican que la capacidad de la fruta para mantener su potencial antioxidante durante el almacenamiento (como se observa en frutos H₁), más que el contenido total inicial de antioxidantes, podría tener un rol en la prevención de escaldado superficial.

2.5. Conclusiones

En su conjunto, los resultados presentados en este trabajo mostraron que el modelo generalmente utilizado para las manzanas para explicar la relación entre la madurez de los frutos a la cosecha y la incidencia de escaldado superficial no puede extrapolarse a las peras “Beurré d’Anjou”.

Los frutos de cosecha temprana fueron menos propensos a desarrollar escaldado que los cosechados más tarde. Las diferencias en la sensibilidad de los frutos de las distintas fechas de cosecha se correlacionan también con la capacidad para producir etileno y con el patrón de acumulación de AF y CTols.

Asimismo, los resultados sugieren que la síntesis de AF en peras “Beurré d’Anjou” no depende exclusivamente del etileno. En este sentido, otros factores, muy probablemente asociados con las bajas temperaturas de almacenamiento, explicarían la acumulación de este sesquiterpeno en la piel de la fruta. La participación de antioxidantes específicos o la capacidad antioxidante total de frutas aún no está clara y debe investigarse, pero nuestros resultados muestran que la menor susceptibilidad de la fruta cosechada temprano para desarrollar escaldado superficial estaría ligada a la capacidad de la fruta para mantener mejor su potencial antioxidante durante el almacenamiento.

CAPITULO 3.

La importancia del factor varietal

3.1. Introducción

“Packham’s Triumph” es la segunda variedad de pera más cultivada en la región del Alto Valle de Río Negro y se puede conservar durante 6 o 7 meses en frío convencional y hasta 9 meses en atmósfera controlada. “Beurré d’Anjou” es la tercer variedad en importancia y posee una muy buena tolerancia al almacenamiento, tanto en frío convencional (5 a 7 meses) como en atmósfera controlada. En los dos cultivares el escaldado superficial es la principal limitante en la fase postcosecha (Benítez, 2001).

A pesar de los numerosos esfuerzos en desarrollar nuevos tratamientos para prevenir el escaldado, aún no hay métodos consistentes para predecir este desorden. Es de suma importancia poder predecir el escaldado lo antes posible, para que puedan tomarse medidas correctoras antes de la aparición de los síntomas. Con este objetivo, Gine Bordonaba et al., (2013) propusieron un modelo basado en la dinámica de acumulación de los CTols durante las primeras etapas de almacenamiento (<50 días) en manzanas “Granny Smith”. Previamente, Chen et al. (1993) habían determinado que existe una concentración de CTols en la piel de las peras “Beurré d’Anjou” por encima de la cual se manifiesta el escaldado. En el capítulo anterior se evaluó la relación entre el estado de madurez de las peras “Beurré d’Anjou” y la susceptibilidad al escaldado superficial. Los resultados mostraron que el modelo utilizado en manzanas para explicar la relación entre la madurez a cosecha y la incidencia de escaldado superficial no puede aplicarse en esta variedad. En su conjunto, los resultados obtenidos sugieren que la madurez a cosecha y el umbral crítico de CTols podrían ser empleados para la predicción de la susceptibilidad a escaldado en peras “Beurre D’ Anjou”.

A la luz de estos resultados, se decidió estudiar de forma más completa los cambios bioquímicos que están asociados al desarrollo del escaldado superficial y verificar si los resultados observados en “Beurré d’Anjou” se verificaban en otra variedad. Para ello, se trabajó con peras “Beurré d’Anjou” y “Packham’s Triumph”. En peras “Beurré d’Anjou” (Experimento 1), el objetivo fue validar el valor de umbral crítico propuesto en el Capítulo 2 y en peras “Packham’s Triumph” (Experimento 2), el objetivo fue definir el valor del umbral en este cultivar y establecer la validez del modelo de desarrollo de escaldado en ambos cultivares.

3.2. Materiales y métodos

Material vegetal y condiciones de almacenamiento

Experimento 1: Se utilizaron peras “Beurré d’Anjou” provenientes de la misma chacra comercial mencionada en el Capítulo 2 y cosechadas en tres fechas diferentes: 27 de enero (H₁); 10 de febrero (H₂) y 24 de febrero (H₃).

Experimento 2: Las peras “Packham’s Triumph” fueron cosechadas en una chacra comercial ubicada en la misma localidad y se cosechó el 3 de Febrero (H₁); 18 de febrero (H₂) y 3 de Marzo (H₃).

Los frutos de ambos experimentos se enfriaron y se embalaron en cajas de cartón, como se explicó en el capítulo anterior. La fruta se conservó en frío convencional a -0,5°C y 95% HR durante 240 días, realizándose evaluaciones después de: 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 días.

Determinaciones de madurez

La madurez se determinó al momento de la cosecha como se describió en el Capítulo 2, sobre 5 repeticiones de 10 frutos cada una.

Índice de diferencia de absorbancia (DA):

Al momento de la cosecha, se determinó en la piel de la fruta fresca sobre 5 repeticiones de 10 frutos el índice DA con un espectrofotómetro (HR 2000+ Ocean Optics, USA), midiendo la diferencia entre los valores de absorbancia promedio a las longitudes de onda 677 nm y 722 nm (Ziosi et al. 2008; Gomila et al., 2011).

Producción de etileno

Se determinó la producción de etileno y las variables “demora”, “climaterio” y “magnitud” del climaterio tal como fue descrito en el Capítulo 2, sobre 5 repeticiones de 1 fruto.

Desarrollo de escaldado superficial

Se determinó la incidencia y la severidad después de 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 días a -0,5 °C y 7 días a 20 °C sobre 5 repeticiones de 10 frutos cada una y los resultados se expresaron con el índice IES tal como fue descrito en el Capítulo 2.

Contenido de α -farnesenos (AF) y trienos conjugados (CTols)

Se realizaron en todas las evaluaciones, como fue descrito en el Capítulo 2, en 10 repeticiones de un fruto cada una.

Capacidad antioxidante total (DPPH)

Se determinó como fue descrito en el Capítulo 2, utilizando 5 repeticiones de 10 frutos cada una.

Contenido de polifenoles

En todas las evaluaciones se determinó el contenido de polifenoles por espectrofotometría en 10 repeticiones de un fruto. Este método se basa en la reacción de óxido-reducción entre los iones Tungsteno (W) y Molibdato (Mo), contenidos en el reactivo de Folin-Ciocalteu (F-C), y los fenoles. Se utilizaron 0,1 g del polvo de la piel liofilizada, a los que se agregaron 1,7 mL de metanol al 80% (v/v) y se agitó durante 2 horas. Se centrifugó a 11.000 g durante 5 minutos. En una cubeta de 4,5 mL se agregaron 1,58 mL de agua, 0,02 mL de extracto de la muestra, y 0,1 mL de solución de F-C, y se dejó reposar durante 8 min. Luego se agregaron 0,3 mL de solución Na₂CO₃ al 20% (p/v) y se dejó reposar durante 2 horas a temperatura ambiente y oscuridad. Se midió la absorbancia a 765 nm y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico en 100 mL de muestra.

Contenido de ácido ascórbico (Vitamina C)

En todas las evaluaciones se determinó el contenido de ácido ascórbico (AsA) por espectrofotometría a 524 nm, en base a la reacción de reducción del 2,6-diclorofenol-indofenol (DCIP) por el AsA. Se realizaron 6 repeticiones de muestra constituida por la piel de 5 frutos de un mismo lote, a la cual se la colocó en un recipiente con 300 mL de H₃PO₄ al 1% (p/v) y se trituró con un mixer (Misra y Seshadri, 1967). Una alícuota de 0,15 mL de muestra se mezcló con 0,5 mL de solución acuosa de DCIP (30 mg L⁻¹). Se dejó transcurrir la reacción durante 30 s e inmediatamente después se registró la absorbancia, a la cual se le descontó la medida del blanco de reactivos conteniendo TCA en lugar de muestra. Los resultados se expresaron como contenido de ácido ascórbico en mg/100 g de muestra.

Peróxidos lipídicos (MDA)

En todas las evaluaciones se cuantificó el malondialdehído (MDA) en los frutos como un índice de la peroxidación lipídica, utilizando los sustratos reactivos al ácido tiobarbitúrico como se describe en Martínez-Solano et al. (2005). Cinco repeticiones de las muestras de piel de 5 frutos (5 repeticiones de 5 frutos cada una) se congelaron con nitrógeno líquido, se pulverizaron en mortero, se disolvieron en solución de ácido tricloroacético (TCA 0,1% p/v) y se centrifugaron a 11.000 g durante 20 min. Los extractos de tejido vegetal se hicieron reaccionar con una solución de ácido tiobarbitúrico al 0,1% p/v en TCA al 0,1% a 98 °C por 20 min. La concentración de MDA se determinó por espectrofotometría midiendo la absorbancia a las longitudes de onda: 440, 532, y 600 nm, utilizando el coeficiente de extinción de 155 mM cm⁻¹. Los resultados se expresaron como nmol/g de muestra.

Pérdida de electrolitos

En todas las evaluaciones se estimó la pérdida de electrolitos en la piel de los frutos de cinco repeticiones de 5 frutas cada una, determinando la conductividad eléctrica relativa de acuerdo a la metodología descrita por Thomai et al. (1998) con algunas modificaciones. Se extrajeron tres discos de 10 mm de diámetro de la piel de cada fruto y se eliminaron totalmente los restos de pulpa. Estos discos se colocaron en tubos Falcon de 50 mL que contenían 20 mL de agua bidestilada, y se agitaron brevemente con el fin de lavar la superficie de los discos. La solución fue reemplazada por el mismo volumen de agua bidestilada y los tubos se mantuvieron a 25 °C durante 24 h bajo agitación continua. La conductividad eléctrica inicial (Ci) fue medida con un medidor de conductividad eléctrica (DuraProbeTM4, Thermo Electron Corporation, EE.UU). Los discos se congelaron en nitrógeno líquido, se descongelaron e incubaron durante 24 h en 20 mL de agua bidestilada con el fin de determinar el contenido total de iones y por lo tanto su conductividad eléctrica total (Ct). Se midió la conductividad sobre tres blancos (Cb), que contenían sólo agua bidestilada. La pérdida de electrolitos fue calculada según:

$$\text{Pérdida de electrolitos (\%)} = 100 \times [C_i - C_b / C_t - C_b]$$

Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) utilizando el software INFOSTAT Profesional / versión 2006p.1. La separación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey con un nivel de significación del 0,05 (valores de p).

3.3. Resultados

Experimento 1: Peras “Beurré d’Anjou”

Estado de madurez a cosecha

Cuadro 3.3.1. Índices de madurez (firmeza, sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT), color, degradación de almidón, índice DA, peso y capacidad antioxidante total (DPPH) de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H₁); 10 de febrero (H₂) y 24 de febrero (H₃). Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes, Tukey $\alpha=0,05$

	Firmeza (N)	SST (%)	AT (g/l)	Color (Hue)	Degr. Alm (%)	DA	Peso (g)	DPPH (%)
H ₁	71,8 a	10,5 b	4,54 a	119,6 a	7,7 c	1,2 a	142,2 b	26,9 b
H ₂	64,6 b	11,5 ab	4,42 a	118,4 b	47,1 b	0,9 b	161,3 a	23,9 c
H ₃	55,2 c	12,3 a	3,60 b	116,6 c	63,0 a	0,8 c	172,8 a	34,7 a
<i>p-valor</i>	<0,0001	0,0032	0,0013	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0007	<0,0001

En peras “Beurré d’Anjou” se observaron diferencias significativas en la mayoría de los índices de madurez evaluados, lo que permite decir que los frutos de cada cosecha estaban en distintos estados de madurez. La comparación de los valores obtenidos en la cosecha tardía (H₃) con respecto a la cosecha temprana (H₁) indica que los frutos perdieron firmeza (16,6 N), acidez (0,9 g/l) y color verde (3,0 hue), mientras que aumentó la degradación de almidón (55,3%), el contenido de sólidos solubles (1,82%), y el tamaño (30,6 gr). El índice DA presentó una alta correlación con la evolución de la madurez. El valor de este índice descendió significativamente a medida que se retrasó la fecha de cosecha (disminución de la absorbancia a 677 nm), lo cual correlaciona con la disminución de la concentración de clorofilas durante la maduración de los frutos (Cuadro 3.3.1).

Producción de etileno

En peras “Beurré d’Anjou” la producción de etileno fue indetectable al momento de cosecha y después de 15 y 30 días de almacenamiento a bajas temperaturas. Los frutos H₂ y H₃ comenzaron a producir cantidades detectables de etileno a partir de los 45 días de almacenamiento en frío mientras que los frutos H₁ lo hicieron a partir de los 90 días de almacenamiento. Estos 45 días de diferencia entre los frutos H₁ y los H₂/H₃ indican diferencias significativas en el estado fisiológico del fruto entre estas cosechas, que coinciden con la madurez inicial (Cuadro 3.3.2). También pudo observarse que los frutos de cosechas tempranas (H₁) presentan valores de magnitud del climaterio mayores que los frutos de las cosechas más tardías H₂ y H₃ (Cuadro 3.3.2).

Cuadro 3.3.2. Tiempo hasta empezar a producir etileno (demora), tiempo hasta alcanzar el climaterio (climaterio) y magnitud del climaterio (magnitud) de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H₁); 10 de febrero (H₂) y 24 de febrero (H₃), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C.

Etileno	Cosecha	Tiempo de almacenamiento (días)										
		0	15	30	45	60	90	120	150	180	210	240
Demora (días)	H ₁	nd	nd	nd	nd	nd	26	0	0	0	0	0
	H ₂	nd	nd	nd	18	13	12	7	0	0	0	0
	H ₃	nd	nd	nd	14	6	4	0	0	0	0	0
Climaterio (días)	H ₁	nd	nd	nd	nd	nd	nd	21	12	9	9	9
	H ₂	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	11	10	12	7
	H ₃	nd	nd	nd	nd	20	16	11	16	10	12	11
Magnitud (nl g ⁻¹ h ⁻¹)	H ₁	nd	nd	nd	nd	nd	nd	88,2	42,8	37,8	68,5	53,0
	H ₂	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	26,4	32,9	25,8	37,9
	H ₃	nd	nd	nd	nd	8,7	20,2	24,4	17,2	23,0	23,7	18,3

nd: no detectable durante los 30 días de vida en estante (20 °C).

Escaldado superficial

No se observaron síntomas de escaldado superficial en las evaluaciones realizadas inmediatamente después de la salida de la cámara (datos no presentados). En cambio, después de 7 días a 20 °C, se observaron diferencias significativas entre cosechas. Después de 90 días de almacenamiento, los frutos H₃ presentaron una incidencia de 58%, mientras que los frutos H₁ y H₂ no manifestaron síntomas. Un resultado similar se observó después de 120 días de conservación, en donde los frutos H₁ presentaron un porcentaje significativamente menor de escaldado (14%), que los H₂ (54%) y los H₃ (100%) (Figura 3.3.1), así como un menor índice de severidad (Cuadro 3.3.3). Después de 150 días, los frutos H₁ todavía manifestaron menor susceptibilidad al escaldado superficial (52%) que H₂ y H₃ (98%). Después de 180 días la incidencia de escaldado fue superior a 85% en todas las cosechas y a partir de 210 días de almacenamiento la escaldadura superficial afectó a más de 90% de los frutos de todas las cosechas sin diferencias significativas (Figura 3.3.1). Estos resultados indican que la susceptibilidad de los frutos al escaldado está claramente relacionada con la madurez a cosecha y con los datos de producción de etileno. En este sentido, el número de días de demora de la producción y no el máximo de producción de etileno sería un buen indicador de la sensibilidad de los frutos al escaldado.

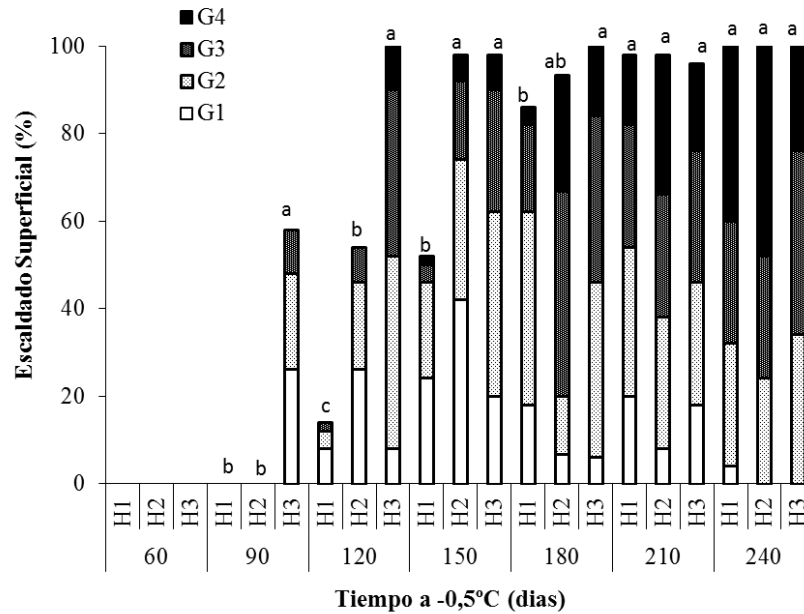


Figura 3.3.1. Incidencia (% de fruta afectada) y severidad (G1, G2, G3, G4) de escaldado superficial de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H₁); 10 de febrero (H₂) y 24 de febrero (H₃) después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey $\alpha=0,05$

Cuadro 3.3.3. Índice de escaldado superficial (IES) de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H₁); 10 de febrero (H₂) y 24 de febrero (H₃), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey $\alpha=0,05$.

Cosecha	Tiempo de almacenamiento (días)					
	90	120	150	180	210	240
H ₁	0,1 b	0,2 c	0,9 b	1,8 b	2,4 a	3,0 a
H ₂	0,0 b	0,9 b	1,8 a	1,4 c	2,8 a	3,2 a
H ₃	1,0 a	2,5 a	2,2 a	2,6 a	2,4 a	2,9 a
p-valor	0,0005	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,2574	0,2446

Contenido de α -farnesenos (AF) y trienos conjugados (CTols)

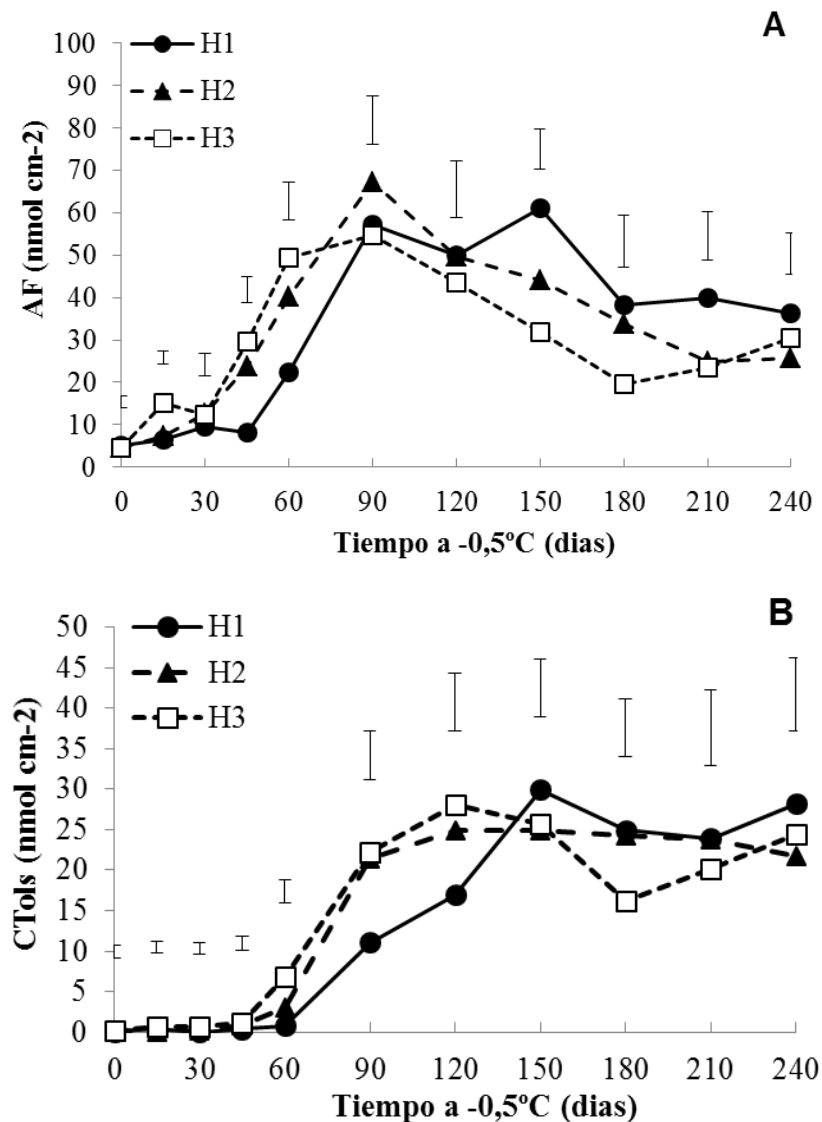


Figura 3.3.2. Contenido de α -farnesenos (A) y trienos conjugados (B) en la piel de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H₁); 10 de febrero (H₂) y 24 de febrero (H₃) después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias (p<0,05).

Los niveles de AF al momento de la cosecha eran bajos y no se detectaron diferencias entre las fechas de cosecha. Se observó un incremento de AF en los frutos de las tres cosechas, a pesar de que aún no estaban produciendo cantidades detectables de etileno (Figura 3.3.2A), lo cual demuestra que los procesos de acumulación de AF no estarían ligados de forma exclusiva a la producción de etileno. Los AF se acumularon hasta alcanzar un máximo a los 90 días en H₂ y H₃ y a los 150 días en H₁, momento a partir del cual comenzaron a descender debido a su oxidación.

Aunque los niveles de CTols fueron bajos hasta los 45 días de almacenamiento para todas la fechas de recolección, estos se incrementaron después y se pudo observar en algunos puntos diferencias significativas entre los frutos H₁, que presentaron menor contenido de CTols que los frutos H₃. A partir de los 45 días, los CTols se

incrementaron rápidamente y las diferencias entre las fechas de cosecha se hicieron más notorias, observándose un mayor contenido de CTols en los frutos H₂ y H₃ que en los H₁. Después de alcanzar un máximo a los 120 (H₂ y H₃) o a los 150 (H₁) días de almacenamiento, el contenido de CTols comenzó a descender (Figura 3.3.2B). Los frutos H₁ presentaron una acumulación y una oxidación de AF más lenta que los frutos H₂ y H₃ (Figura 3.3.2). Estos resultados son coincidentes con el porcentaje de fruta afectada por escaldado, ya que los frutos H₃ fueron los primeros en manifestar síntomas (tras 90 días de almacenamiento) y mantuvieron un porcentaje superior (100%) que los H₁ (14%) tras 120 días de almacenamiento. En esta evaluación, los frutos H₂ manifestaron una incidencia de escaldado intermedia (54%) (Figura 3.3.1).

Capacidad antioxidante total (DPPH)

El potencial antioxidante de los frutos (DPPH) al momento de la cosecha fue mayor (34,6%) en los frutos H₃, que en los H₁ (26,9%) y H₂ (23,87%). En H₁ y H₂ este potencial se incrementó rápidamente entre los 0 y los 30 días, para mantenerse estable después. Este incremento rápido podría deberse a una respuesta ante el estrés por el almacenamiento a bajas temperaturas. Los frutos H₃ presentaron una tendencia constante en descenso, especialmente después de 90 días de conservación (Figura 3.3.3). La pérdida de la capacidad antioxidante podría relacionarse con la mayor incidencia de escaldado en los frutos más maduros (Figura 3.3.1).

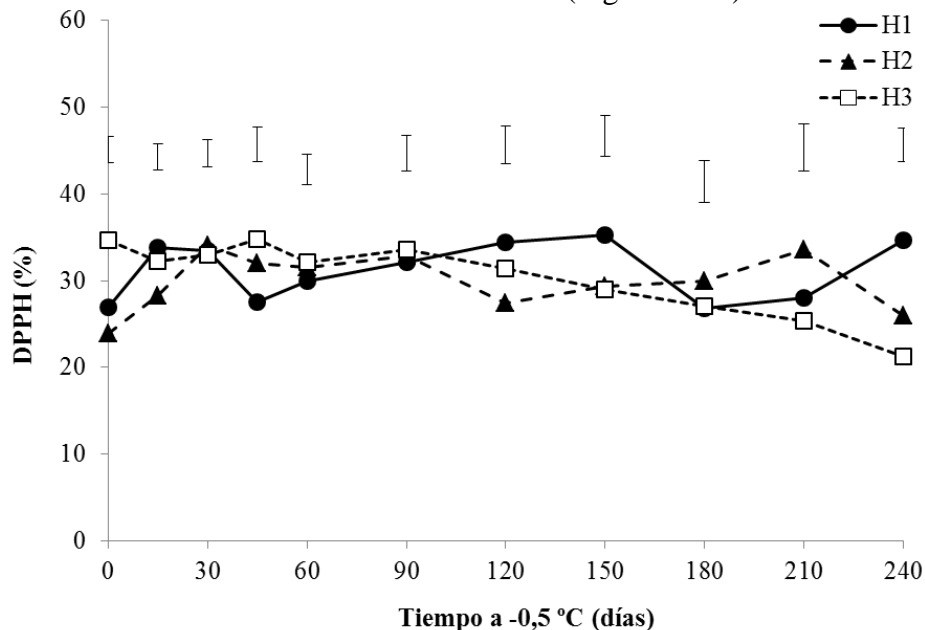


Figura 3.3.3. Cambios en la capacidad antioxidante (% de inhibición) en la piel de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H₁); 10 de febrero (H₂) y 24 de febrero (H₃) después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el DE de las medias ($p < 0,05$).

Polifenoles

El contenido de polifenoles descendió en los primeros 30 y 15 días de almacenamiento en los frutos de las tres cosechas, y a partir de allí se mantuvo a valores relativamente estables durante todo el periodo de conservación (Figura 3.3.4).

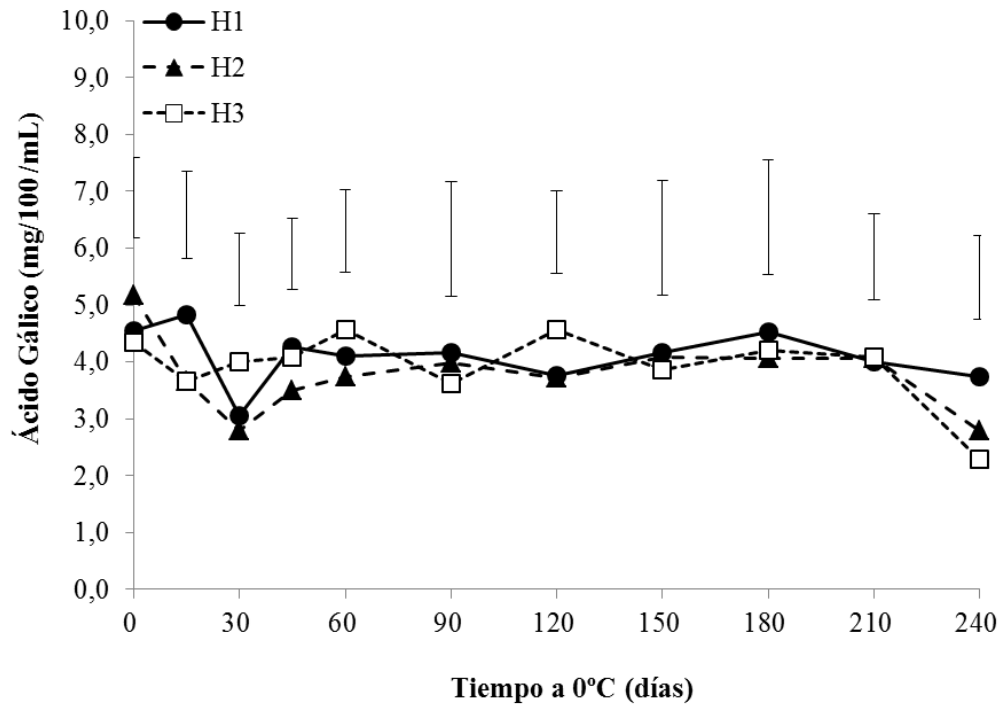


Figura 3.3.4. Polifenoles totales en la piel de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H₁); 10 de febrero (H₂) y 24 de febrero (H₃) después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el DE de las medias (p < 0,05).

Contenido de ácido ascórbico (Vit. C)

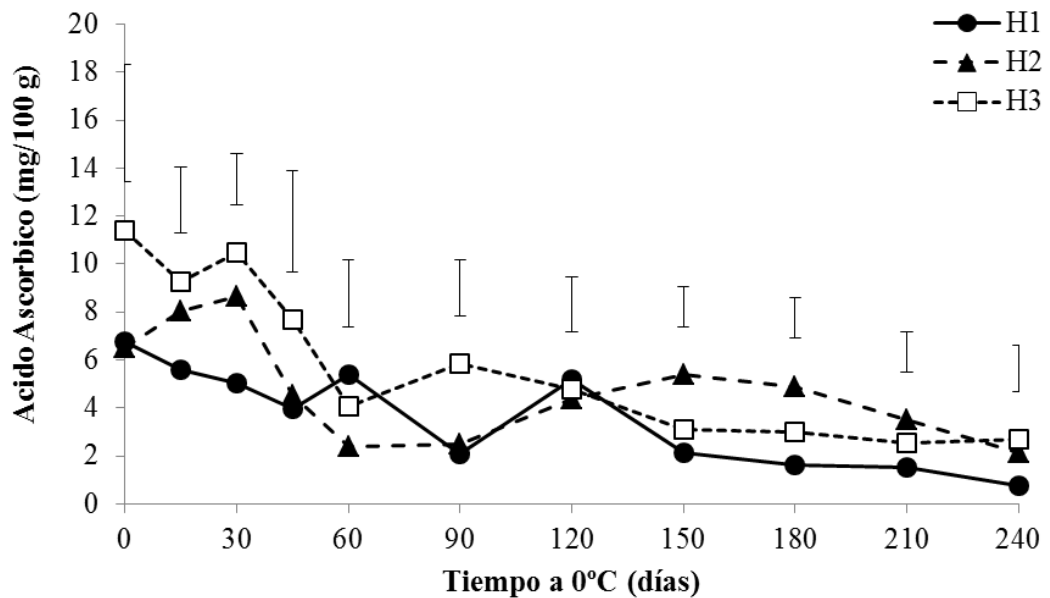


Figura 3.3.5. Contenido de Ácido Ascórbico en la piel de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H₁); 10 de febrero (H₂) y 24 de febrero (H₃) después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el DE de las medias (p < 0,05).

El contenido de ascórbico inicial fue de 6,7; 6,5 y 11,4 mg/100 g para los frutos de las cosechas H₁, H₂ y H₃, respectivamente. En todas las cosechas, el contenido de ácido ascórbico descendió rápidamente durante los primeros 60 días de almacenamiento y a partir de ese momento se mantuvo estable (Figura 3.3.5)

Peroxidación de lípidos (MDA) y pérdida de electrolitos

El contenido inicial de MDA fue mayor en frutos de la cosecha H₃. El mismo aumentó a medida que se prolongó el almacenamiento, indicando una mayor peroxidación de lípidos de las membranas. Pudo observarse que este daño fue generalmente menor en los frutos H₁ que en los frutos H₂ y H₃ (Figura 3.3.6).

La pérdida de electrolitos al momento de la cosecha fue ligeramente mayor en frutos H₃ que en los frutos H₂ y H₁, lo cual se corresponde con el deterioro de las membranas asociado a un grado avanzado de maduración. Esta variable descendió lentamente hasta aproximadamente los 120 d de almacenamiento en todos los frutos, y después se incrementó. Después de 240 d de almacenamiento, los frutos presentaron entre un 65 y 70% de pérdida de electrolitos independientemente de la fecha de cosecha (Figura 3.3.7). De este modo, el contenido de MDA podría ser un mejor indicador del estado de las membranas que la pérdida de electrolitos.

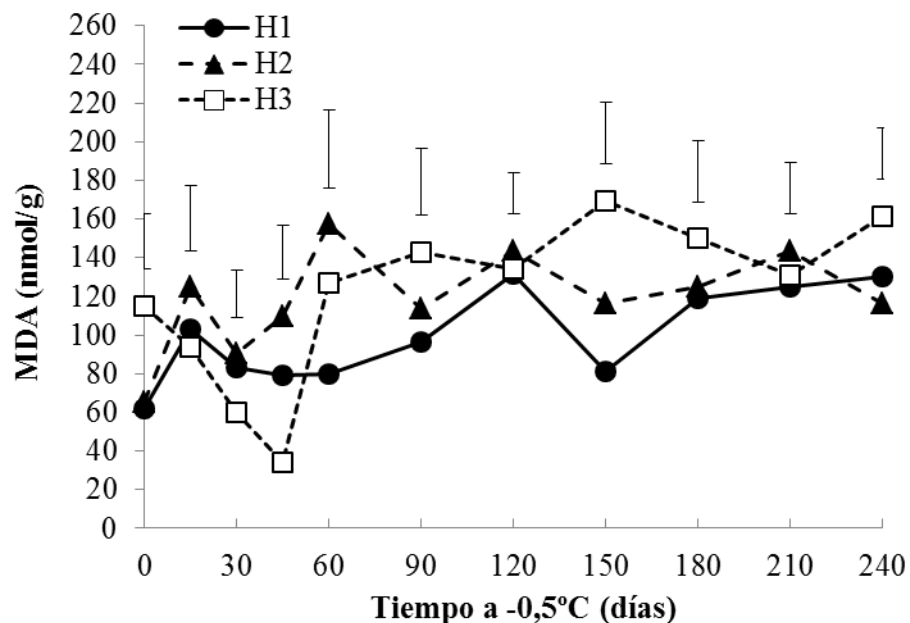


Figura 3.3.6. Peroxidación lipídica en la piel de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H₁); 10 de febrero (H₂) y 24 de febrero (H₃) después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el DE de las medias ($p < 0,05$).

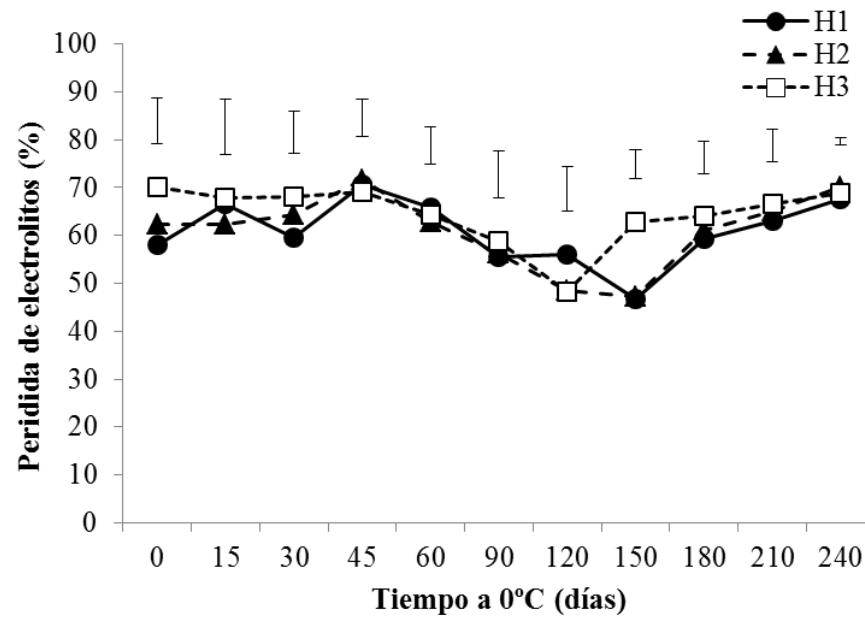


Figura 3.3.7. Pérdida de electrolitos en la piel de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 27 de enero (H₁); 10 de febrero (H₂) y 24 de febrero (H₃) después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el DE de las medias ($p < 0,05$).

Experimento 2: Peras “Packham’s Triumph”

Estado de madurez a cosecha

Cuadro 3.3.4. Índices de madurez (firmeza, sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT), color, degradación de almidón, DA, peso y capacidad antioxidante total (DPPH) de peras “Packham’s Triumph” cosechadas el 03 de febrero (H₁); 18 de febrero (H₂) y 03 de marzo (H₃). Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes, Tukey $\alpha = 0,05$

	Firmeza (N)	SST (%)	AT (g/l)	Color (Hue)	Degr. Alm (%)	DA	Peso (g)	DPPH (%)
H ₁	66,4 a	10,3 b	3,0 a	119,9 a	27,6 b	0,9 a	211,5 b	29,4 a
H ₂	59,1 b	11,7 a	3,2 a	117,8 b	44,6 a	0,8 a	253,4 a	24,7 b
H ₃	56,7 b	11,9 a	2,2 b	117,2 b	51,6 a	0,8 a	262,3 a	23,7 b
<i>p</i> -valor	<0,0001	0,0042	0,0004	0,0003	0,0005	0,0568	0,0008	<0,0001

En peras “Packham’s Triumph”, en general, las diferencias en los índices de madurez se observaron entre H₁ y H₂/H₃, mientras que H₂ y H₃ no difirieron significativamente entre sí. Los valores de firmeza, SST, color, degradación de almidón, peso y DPPH fueron similares para estas dos cosechas. En este caso, el índice DA fue similar para las tres cosechas (Cuadro 3.3.4).

Producción de etileno

En peras “Packham’s Triumph” la producción de etileno fue indetectable al momento de cosecha en los frutos H₁, H₂ y H₃ (día 0). Los frutos H₂ y H₃ comenzaron a producir cantidades detectables de etileno a partir de los 15 días de almacenamiento en frío, mientras que los frutos H₁ lo hicieron a partir de los 30 días de almacenamiento

(Cuadro 3.3.7). Estos 15 días de diferencia entre los frutos de H₁ y los H₂/H₃ indican diferencias significativas en el estado fisiológico entre estas cosechas, lo cual se correlaciona con las diferencias observadas en los índices de madurez inicial (Cuadro 3.3.4). La producción de etileno fue indetectable en frutos H₁ hasta los 15 días, mientras que H₂ y H₃ presentaron valores máximos entre 2,5 y 4,7 nlgr⁻¹h⁻¹. Los máximos de producción fueron similares para las tres fechas de cosecha hasta los 60 días de almacenamiento a bajas temperaturas. A partir de allí, pudo observarse que los frutos de cosecha temprana (H₁) presentan valores máximos crecientes y mayores que en los frutos de las cosechas posteriores H₂ y H₃ (Cuadro 3.3.5).

Cuadro 3.3.5. Tiempo hasta empezar a producir etileno (demora), tiempo hasta alcanzar el climaterio (climaterio) y magnitud del climaterio (magnitud) de peras “Packham’s Triumph” cosechadas el 3 de febrero (H₁); 18 de febrero (H₂) y 3 de marzo (H₃), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C.

Etileno	Cosecha	Tiempo de almacenamiento (días)										
		0	15	30	45	60	90	120	150	180	210	240
Demora (días)	H ₁	nd	nd	16	5	7	0	0	0	0	0	0
	H ₂	nd	10	6	7	4	0	0	0	0	0	0
	H ₃	nd	9	7	3	0	0	0	0	0	0	0
Climaterio (días)	H ₁	nd	nd	27	17	14	7	7	7	6	8	7
	H ₂	nd	14	19	11	9	6	7	7	7	5	7
	H ₃	nd	14	15	12	9	7	7	6	5	7	7
Magnitud (nl g ⁻¹ h ⁻¹)	H ₁	nd	nd	55,4	58,6	58,4	162,2	193,0	218,8	262,5	226,1	190,0
	H ₂	nd	14,4	56,2	80,1	70,0	98,1	92,6	149,4	197,0	148,5	173,8
	H ₃	nd	39,8	55,1	64,5	87,2	96,6	139,1	181,2	151,3	158,6	141,2

nd: no detectable durante los 30 días de vida en estante (20 °C).

Escaldado superficial

No se observaron síntomas de escaldado superficial en las evaluaciones realizadas inmediatamente después de la salida de la cámara. En las evaluaciones realizadas después de 7 días a 20 °C, se observaron diferencias entre las fechas de cosecha. Los síntomas de escaldado comenzaron a observarse a partir de 120 días en los frutos H₃, y a partir de 150 días, en los frutos H₁ y H₂. Después de 120 días, los frutos H₃ presentaron una incidencia de 13% mientras que los frutos H₁ y H₂ no manifestaron síntomas. Después de 150 días de conservación, los frutos H₁ y H₂ presentaron un porcentaje más bajo (3%), que los H₃ (13%), sin embargo las diferencias no resultaron significativas (Figura 3.3.8) y el índice de severidad fue similar (Cuadro 3.3.6). Después de 180 días, los frutos H₁ manifestaron una menor susceptibilidad al escaldado superficial (23%) que H₂ y H₃ (66 y 60%, respectivamente). Después de 210 días la incidencia de escaldado fue superior a 70% y no se observaron diferencias significativas (Figura 3.3.8). Al igual que lo observado en peras “Beurré d’Anjou”, estos resultados sugieren que la susceptibilidad a escaldado en peras “Packham’s Triumph” está claramente relacionada con la madurez a la cosecha y con la producción de etileno

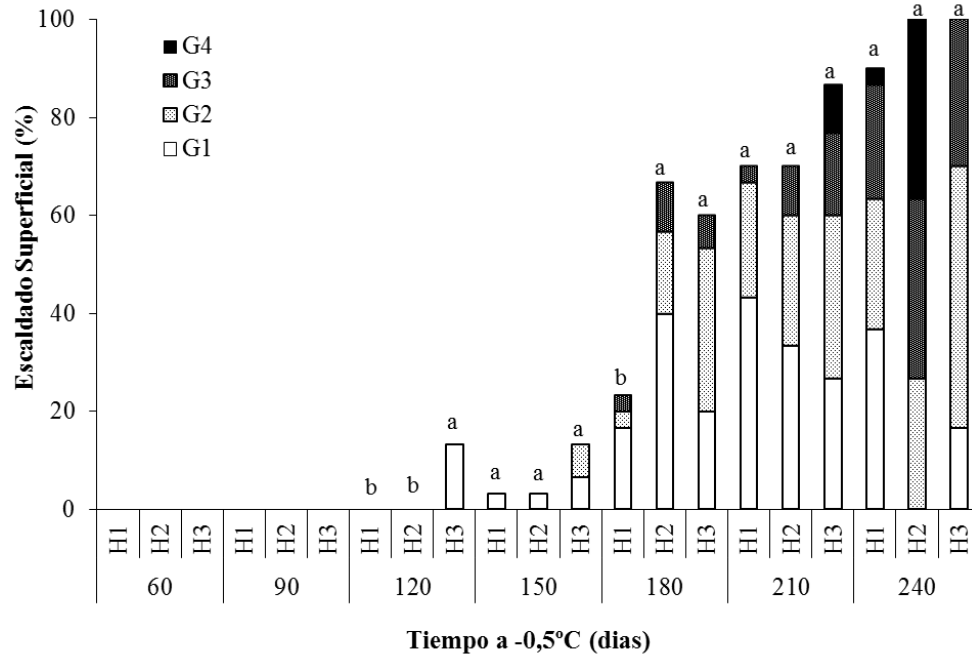


Figura 3.3.8. Incidencia (% de fruta afectada) y severidad (G1, G2, G3, G4) de escaldado superficial de peras “Packham’s Triumph” cosechadas el 03 de febrero (H₁); 18 de febrero (H₂) y 03 de marzo (H₃), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey $\alpha=0,05$.

Cuadro 3.3.6. Índice de escaldado superficial (IES) de peras “Packham’s Triumph” cosechadas el 3 de febrero (H₁); 18 de febrero (H₂) y 3 de marzo (H₃), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey $\alpha=0,05$.

Cosecha	Tiempo de almacenamiento (días)					
	90	120	150	180	210	240
H ₁	0,0	0,0 b	0,0 a	0,3 a	1,0 b	1,7 b
H ₂	0,0	0,0 b	0,0 a	1,0 a	1,2 ab	3,1 a
H ₃	0,0	0,1 a	0,2 a	1,1 a	1,8 a	2,1 b
p-valor	<i>nd</i>	<i>0,0006</i>	<i>0,2463</i>	<i>0,1161</i>	<i>0,0199</i>	<i>0,0021</i>

Contenido de α -farnesenos (AF) y trienos conjugados (CTols)

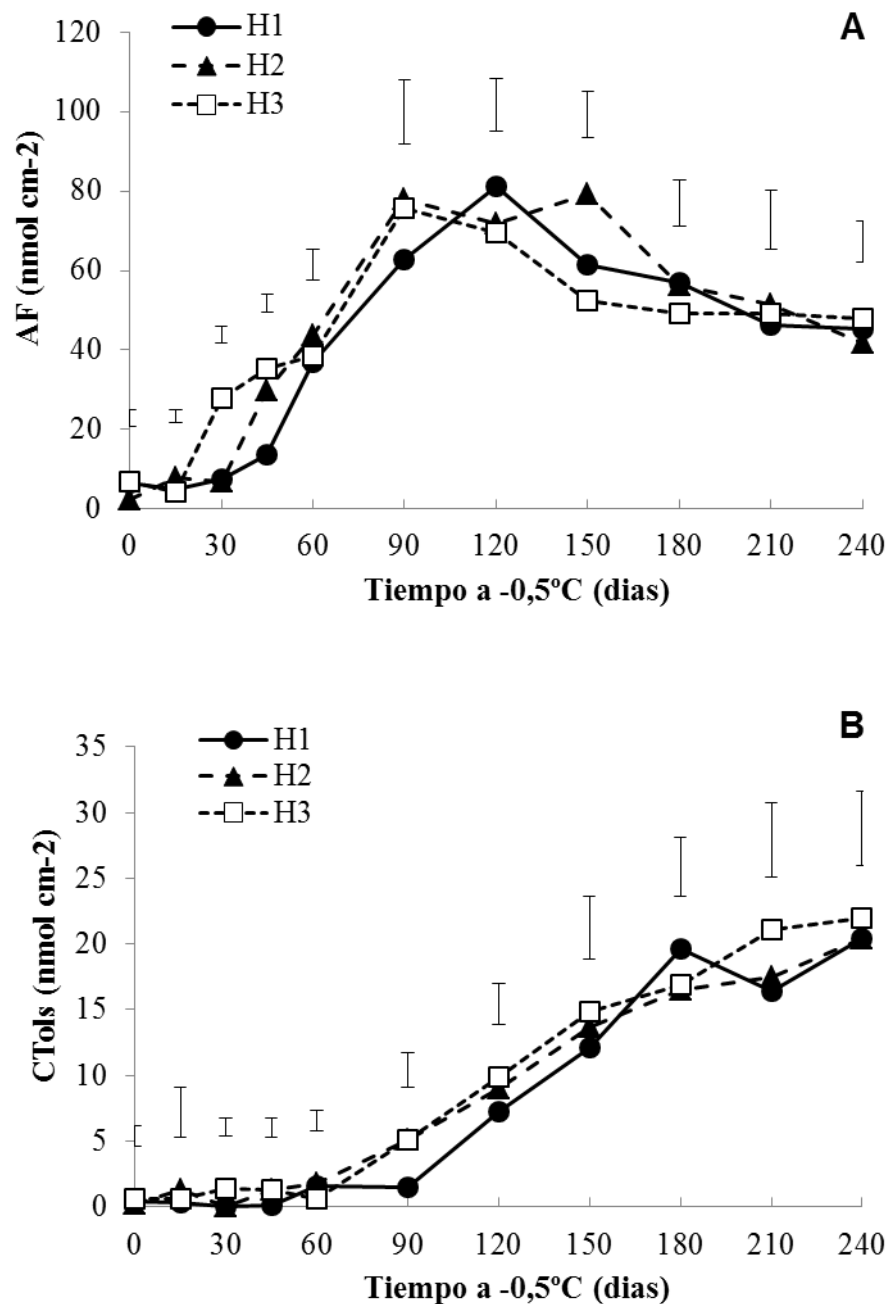


Figura 3.3.9. Contenido de α -farnesenos (A) y trienos conjugados (B) en la piel de peras “Packham’s Triumph” cosechadas el 03 de febrero (H₁); 18 de febrero (H₂) y 03 de marzo (H₃), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p < 0,05$).

Los frutos recién cosechados presentaron bajos contenidos de AF, similar a lo observado en la variedad “Beurré d’Anjou”, que se incrementaron desde el inicio del almacenamiento, aun cuando no habían comenzado a producir etileno. Los AF se acumularon hasta alcanzar un máximo a los 90 días en H₃, a los 120 días en H₁ y a los

150 días en H₂, momento a partir de cual comenzaron a descender debido a su oxidación. Entre los 30 y 60 días de almacenamiento los frutos H₃ presentaron una mayor acumulación de AF que H₁ y H₂ (Figura 3.3.9A). El contenido de CTols en los frutos al momento de cosecha fue muy bajo. Después de los 60 días los CTols se incrementaron y se observaron diferencias significativas entre las fechas de cosecha, siendo en general los frutos de H₁ los de menores niveles de acumulación (Figura 3.3.9B).

Para poder analizar en forma objetiva la dinámica de los cambios producidos en los AF y CTols de las dos variedades, se realizó un ajuste lineal entre los puntos, comprendidos desde el momento en que comenzaron a incrementarse los valores hasta el máximo. En peras “Beurré d’Anjou”, se observan mayores valores de la pendiente de los CTols en frutos H₂ y H₃. Estas diferencias no son tan claras en el caso de peras “Packham’s Triumph” (Cuadro 3.3.7).

Cuadro 3.3.7. Ecuaciones de ajuste lineal y valores de R² para α -farnesenos (AF) y trienos conjugados (CTols) de frutos de pera “Beurré d’Anjou”y “Packham’s Triumph” de distintas fechas de cosecha

Variedad	Variable	Cosecha		
		H ₁	H ₂	H ₃
Beurré D’Anjou	AF (15-90 d)	y= 0,6808x - 11,916 R ² = 0,8433	y= 0,8278x - 9,5575 R ² = 0,9792	y= 0,623x + 2,3281 R ² = 0,8675
	CTols (45-120 d)	y= 0,2396x - 11,58 R ² = 0,9658	y= 0,3475x - 15,002 R ² = 0,9099	y= 0,3738x - 14,839 R ² = 0,966
Packham’s Triumph	AF (15-90 d)	y= 0,8222x - 14,357 R ² = 0,938	y= 0,9995x - 14,806 R ² = 0,961	y= 0,8673x - 5,2972 R ² = 0,9459
	CTols (60-180 d)	y= 0,1561x - 10,341 R ² = 0,9281	y= 0,1268x - 5,9995 R ² = 0,9949	y= 0,1409x - 7,4663 R ² = 0,9847

Capacidad antioxidante total (DPPH)

A diferencia de lo observado en peras “Beurré d’Anjou” (Capítulos 2 y 3), en las cuales se determinó una mayor capacidad antioxidante (DPPH) en los frutos cosechados más tarde, en este cultivar el potencial antioxidante fue ligeramente mayor (29%) en los frutos recolectados más temprano (H₁, Figura 3.3.10).

Se observó un valor mínimo de capacidad antioxidante a los 45 d en H₃ y a los 60 d en H₁ y H₂, y a partir de ese momento estos valores se incrementaron para estabilizarse hasta el final del almacenamiento (Figura 3.3.10). La disminución más temprana de la capacidad antioxidante en los frutos H₃ podría estar relacionada con la mayor acumulación de AF en los frutos más maduros (Figura 3.3.9).

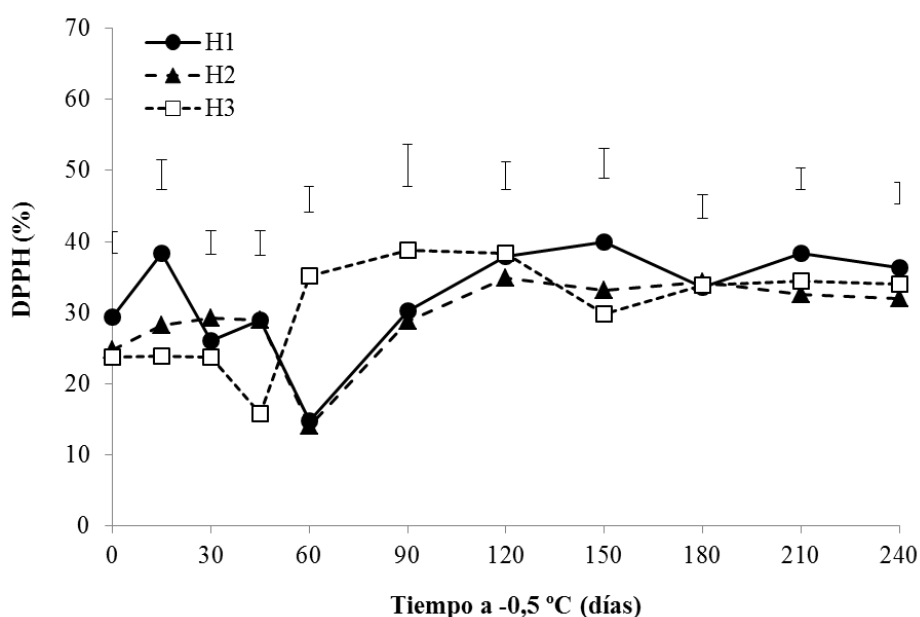


Figura 3.3.10. Cambios en la capacidad antioxidante (% de inhibición) en la piel de peras “Packham’s Triumph” cosechadas el 3 de febrero (H₁); 18 de febrero (H₂) y 3 de marzo (H₃), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p < 0,05$).

Polifenoles

El patrón de evolución de los polifenoles es similar al observado para la capacidad antioxidante total. Se observó una caída de los polifenoles a los 45 d en H₃ y a los 60 d en H₁ y H₂, y a partir de ese momento los niveles de polifenoles se incrementaron para estabilizarse hasta el final del almacenamiento (Figura 3.3.11).

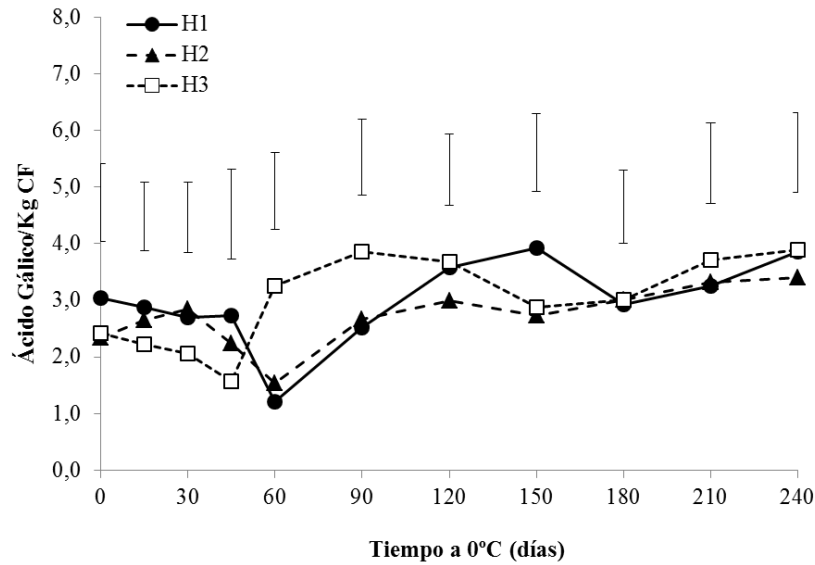


Figura 3.3.11. Polifenoles totales en la piel de peras “Packham’s Triumph” cosechadas el 3 de febrero (H₁); 18 de febrero (H₂) y 3 de marzo (H₃), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p < 0,05$).

Contenido de ácido ascórbico (Vit. C)

El contenido de ácido ascórbico a la cosecha fue de 15,0; 15,2 y 11,3 mg/100 g en los frutos H₁, H₂ y H₃, respectivamente. A partir de allí, el contenido de ácido ascórbico descendió rápidamente durante los primeros 45-60 días de almacenamiento y luego se estabilizó hasta el final del almacenamiento (Figura 3.3.12).

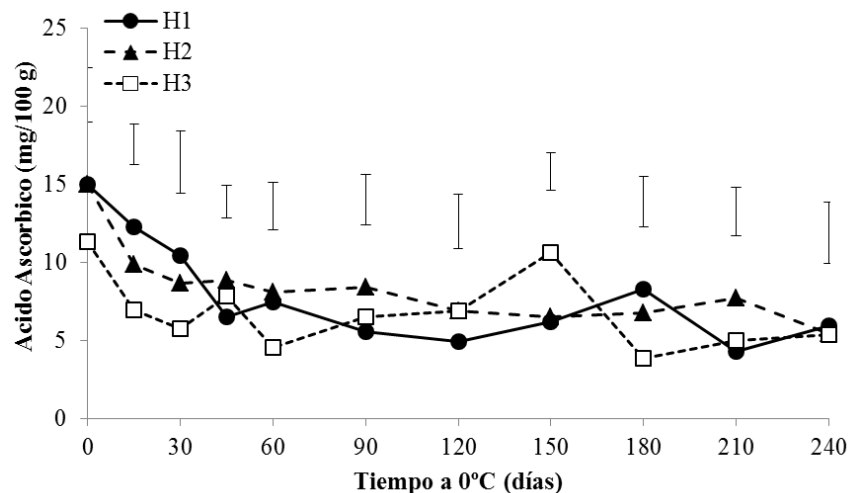


Figura 3.3.12. Contenido de ácido ascórbico en la piel de peras “Packham’s Triumph” cosechadas el 3 de febrero (H₁); 18 de febrero (H₂) y 3 de marzo (H₃), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5

repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p < 0,05$).

3.4. Discusión

Profundizar los conocimientos de los cambios bioquímicos que subyacen el desarrollo del escaldado superficial durante el almacenamiento y validar los valores de umbral críticos obtenidos en peras “Beurré d’Anjou”

En el caso de los cultivares de larga conservación, como “Beurré d’Anjou” y “Packham’s Triumph”, la determinación exacta del estado fisiológico a la cosecha cobra importancia debido a la relación que existe entre el grado de madurez del fruto y la susceptibilidad al escaldado. Los índices estándares como la firmeza, el color y la AT han demostrado ser lo suficientemente confiables para diferenciar los estados de madurez de la fruta en este ensayo. Asimismo, el índice DA descendió a medida que los frutos se cosecharon más maduros (Cuadro 3.3.1). Previamente se había determinado los beneficios de la utilización de esta tecnología en peras. La determinación del índice DA permitió identificar los cambios fisiológicos que ocurren durante la maduración de los frutos de peras, con la ventaja de ser una determinación instantánea y no destructiva (Gomila et al, 2011).

Las peras “Beurré d’Anjou” utilizadas en este capítulo comenzaron a producir etileno entre 30 y 45 días, antes que los frutos utilizados en los experimentos descritos en el capítulo anterior (Cuadro 3.3.2). Esto es importante ya que resultados previos demostraron que el tiempo de demora en iniciar la producción de etileno es un indicador de interés para estimar la sensibilidad de la “Beurre D’ Anjou” al escaldado superficial y que los frutos con mayor capacidad de producir etileno son los más sensibles a desarrollar esta fisiopatía (Calvo et al., 2015)

En este capítulo se confirmó que las peras “Beurré d’Anjou” de madurez más avanzada son más sensibles al escaldado que las de cosecha temprana. Sin embargo en este último trabajo los frutos manifestaron el escaldado antes, coincidiendo con el hecho de que la producción de etileno se inició más tempranamente en los frutos cosechados en esta temporada. Por consiguiente, estos resultados confirman los resultados obtenidos en el capítulo anterior, y demuestran que la incidencia de escaldado superficial está claramente relacionada con la madurez de los frutos a cosecha y con la capacidad de producción de etileno de los frutos.

Tal como se observó en el capítulo anterior (Figura 2.3.2), las peras en este capítulo presentaron un patrón de acumulación de α -farnesenos similar al descrito para manzanas (Anet, 1972; Whitaker et al. 1997, Giné Bordonaba et al, 2013) y peras (Chen et al., 1990; Isidoro y Almeida, 2006; Whitaker et al., 2009), con bajos valores iniciales que se incrementaron durante los tres meses de almacenamiento y después disminuyeron (Figura 3.3.3). Los CTols y los AFs se acumularon más rápidamente en frutos de madurez avanzada (H_3), lo cual se correlaciona con la mayor incidencia y severidad de escaldado (Figuras 3.3.2 y 3.3.1). Por lo tanto, se confirma que la mayor tasa de acumulación de CTols, observada en frutos de madurez avanzada (H_2 y H_3), está relacionada con una mayor incidencia y severidad de escaldado. Esto coincide con lo descrito por Chen et al., 1990; Whitaker et al., 1997; Gapper et al., 2006, quienes

demonstraron que los cultivares susceptibles son los que exhiben niveles más altos de CTols en la piel después de pocos meses de almacenamiento a bajas temperaturas.

La relación entre el escaldado superficial y la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) fue investigada recientemente por Sabban-Amin et al. (2011) en frutos almacenados con bajo nivel de oxígeno o tratados con 1-MCP. Según estos autores, existe una relación positiva entre desarrollo del escaldado superficial y los niveles de EROs. Para confirmar esta hipótesis y aclarar aún más la relación entre el escaldado superficial y el estrés oxidativo, se evaluaron en este capítulo varios parámetros claves asociados con el metabolismo antioxidante de la fruta (cambios en la capacidad antioxidante en la piel de la fruta, evolución del contenido de polifenoles y del ácido ascórbico, peroxidación de lípidos y pérdida de electrolitos).

La capacidad antioxidante de las frutas al momento de la cosecha en los frutos utilizados en este ensayo fue mayor en cosechas tardías (H₃) que en cosechas más tempranas (H₁ y H₂) (Cuadro 3.3.1), similarmente a lo observado en el capítulo 2 (Cuadro 2.3.1). En manzanas, la susceptibilidad al escaldado es tanto mayor cuanto más precoz haya sido la cosecha (Ingle y D'Souza, 1989) y esto ha sido asociado a una menor actividad del sistema antioxidante de la epidermis del fruto (Barden y Bramlage, 1994). Meir y Bramlage (1988) describieron un incremento en la actividad antioxidante en manzanas de cosecha tardía, debido a una mayor concentración de los compuestos antioxidantes como el α -tocoferol y los carotenoides. En este ensayo, el contenido inicial de polifenoles de los frutos H₃ a la cosecha fue más bajo que en H₂ y H₁ (Figura 3.3.4), pero el de ácido ascórbico fue mayor (Figura 3.3.5).

Al analizar los datos en su conjunto, se observa que a pesar de tener un potencial antioxidante similar en las tres cosechas, la acumulación de α -farnesenos y desarrollo del escaldado fue mayor en H₃. Este resultado confirma lo observado en el capítulo anterior e indica que el potencial antioxidante global en peras "Beurre D' Anjou" no está directamente relacionado con la susceptibilidad de la fruta a desarrollar escaldado. Es por lo tanto probable, como se especifica en manzanas (Giné Bordonaba et al., 2013), que la protección contra el escaldado esté más relacionada con el contenido de uno o más compuestos antioxidantes específicos que con el potencial antioxidante total del fruto.

A partir de los 90 días, tanto la capacidad antioxidante total, medida por el método del DPPH, como el contenido de polifenoles se mantuvieron relativamente estables y se observó una similitud entre el patrón de evolución de ambos parámetros. Entre los compuestos bioactivos, los polifenoles se destacan por sus actividades de captación de radicales libres (Bravo, 1998) y se reportó una correlación positiva directa entre contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante de los frutos en manzanas (Schmitz-Eiberger et al., 2003). Se realizaron varios estudios sobre el efecto del almacenamiento en frío o en atmósfera controlada en la composición de polifenoles de las manzanas (Napolitano et al., 2004) y se concluyó que estos compuestos se mantienen estables durante el almacenamiento.

A su vez, en los frutos de todas las cosechas, el contenido de ácido ascórbico disminuyó durante el almacenamiento, pero los frutos de cosechas tardías (H₂ y H₃) tendieron a presentar mayores valores de ácido ascórbico que los frutos de cosecha

temprana (H_1). Por lo tanto, ni el contenido de polifenoles ni el de ácido ascórbico permitirían explicar la menor sensibilidad al escaldado de los frutos de H_1 .

El proceso oxidativo asociado con el escaldado y desencadenado por los CTols probablemente implica la actividad de varias especies reactivas de oxígeno (EROs), lo que conduce a la disrupción irreversible de membranas y otros componentes celulares (Rao et al., 1998; Isidoro y Almeida 2006; Whitaker, 2007; Zubini et al., 2007). Esto conlleva al incremento de la peroxidación de los lípidos de membrana. En este ensayo se comprobó que el MDA aumentó a medida que se prolongó el almacenamiento, indicando una mayor peroxidación de lípidos de las membranas, pero este daño fue generalmente menor en los frutos H_1 que en los frutos H_2 y H_3 (Figura 3.3.6), lo que coincide con un menor desarrollo de escaldado en estos frutos.

Obtener los umbrales de CTols críticos en peras “Packham’s Triumph”

Con respecto a los umbrales críticos determinados para “Beurré d’Anjou” (Cap. 2), el escaldado se manifestó en frutos H_2 y H_3 después de 120 días de almacenamiento cuando el contenido en CTols fue de 20,8 y 19,9 nmol cm^{-2} , respectivamente, y en los frutos H_1 después de 180 días cuando éstos eran de 16,8 nmol cm^{-2} (Figura 2.3.2). En cambio, en los frutos utilizados en este capítulo, los frutos de H_3 presentaron escaldado a los 90 días, cuando tenían un nivel de CTols de 22,2 nmol cm^{-2} , y los frutos H_1 y H_2 , después de 120 días, cuando los CTols eran de 16,9 y 24,2 nmol cm^{-2} . Estos datos indican que los frutos de cosecha temprana presentan un umbral crítico más bajo, cercano a los 16 nmol cm^{-2} , mientras que los frutos de madurez más avanzada tendrían un umbral cercano a los 20 nmol cm^{-2} . Esto podría deberse a que los frutos de cosecha temprana tienen una menor capacidad antioxidante a la cosecha. En las peras “Beurré d’Anjou”, teniendo en cuenta los datos obtenidos en las dos temporadas, el umbral crítico de CTols a partir del cual se manifiesta escaldado superficial está en un rango entre 17 y 24 nmol cm^{-2} , dependiendo de la madurez a la cosecha. En peras “Packham’s Triumph” este rango se encuentra entre 10 y 14 nmol cm^{-2} . El valor umbral crítico de la concentración de CTols parece ser entonces dependiente de cada cultivar.

Comparación entre las dos variedades para establecer la especificidad del modelo de desarrollo de escaldado en peras.

Al analizar los cambios bioquímicos que ocurren en los frutos durante el desarrollo del escaldado superficial se observan tanto similitudes como diferencias entre peras “Beurré d’Anjou” y “Packham’s Triumph”. Las ecuaciones lineales ajustadas a la evolución temporal de la producción de AF y CTols (Cuadro 3.3.7) también difirieron entre variedades, en los valores de las pendientes para los CTols. En cuanto a las similitudes, se tiene que destacar una mayor susceptibilidad de “Beurré d’Anjou” al escaldado en los frutos más maduros. En peras “Beurré d’Anjou”, las diferencias de escaldado entre cosechas se relaciona con valores mayores de la pendiente de los CTols. Estas diferencias no son tan claras en el caso de peras “Packham’s Triumph”. Asimismo, para ambos casos se pudo constatar que el escaldado se manifiesta cuando se sobrepasa un umbral crítico determinado por valores de trienos conjugados de 17 a 24 nmol cm^{-2} para “Beurré d’Anjou” y de 10-14 nmol cm^{-2} en “Packham’s Triumph”.

Una diferencia importante es que, aunque las peras “Packham’s Triumph” comienzan a producir etileno antes que “Beurré d’Anjou”, las mismas manifiestan los

síntomas de escaldado más tarde. Esto podría ser debido a la menor tasa de oxidación de los AF en peras “Packham’s Triumph”, ya que la pendiente de los CTols es menor (Cuadro 3.3.7). Otra diferencia es que a la cosecha, la menor capacidad antioxidante en “Beurré d’Anjou” es en frutos H₁ y en peras “Packham’s Triumph” en frutos H₃. Estas diferencias podrían explicar por qué los umbrales críticos de CTols son menores para las peras “Beurré d’Anjou” de H₁ y para las peras “Packham’s Triumph” de H₃. En cuanto al contenido de ácido ascórbico, el contenido inicial en peras “Beurré d’Anjou” está entre 6,4 y 11,4 mg/100 g, mientras que para “Packham’s Triumph” los valores iniciales son muy superiores y están entre 11,3 y 15 mg/100 g. Asimismo, el promedio global (considerando todas las evaluaciones y fechas de cosecha) para “Beurré d’Anjou” es de 4,78 y para peras “Packham’s Triumph” es de 7,65 mg/100 g. Estas diferencias varietales son importantes considerando la sensibilidad al escaldado. Dado que el cultivar “Beurré D’Anjou” es más sensible que “Packham’s Triumph” al escaldado, el ácido ascórbico podría ser un marcador interesante para predecir la susceptibilidad de las peras en conservación a esta fisiopatía.

3.5. Conclusiones

En su conjunto, los resultados presentados en este trabajo muestran que, tanto para peras “Beurré d’Anjou” como para “Packham’s Triumph”, los frutos de cosecha temprana son menos sensibles al escaldado. Estas diferencias de sensibilidad se correlacionan con la capacidad para producir etileno y con el patrón de acumulación de AF y CTols.

La sensibilidad al escaldado no está claramente relacionada con la capacidad antioxidante total de los frutos, pero no se descarta que exista una relación con uno o más antioxidantes en particular. Asimismo, los resultados sugieren que el escaldado se manifiesta cuando se sobrepasa un umbral crítico de trienos conjugados, que es dependiente del cultivar.

Las peras “Packham’s Triumph” comienzan a producir etileno antes que las peras “Beurré d’Anjou” pero manifiestan los síntomas de escaldado más tarde, probablemente debido a menores tasas de acumulación de AF y de CTols. Las peras “Beurré d’Anjou” tuvieron mayores pendientes de acumulación de CTols que las “Packham’s Triumph”, en los frutos de las tres fechas de cosecha.

Se observó una relación negativa entre el contenido de ácido ascórbico y el tiempo de aparición del escaldado. Las peras “Packham’s Triumph”, que son menos sensibles, presentaron un contenido de ácido ascórbico en promedio 1,6 veces superior que las peras “Beurré D’Anjou” y el escaldado se manifiesta un mes después.

CAPITULO 4.

El papel de los antioxidantes endógenos

4.1. Introducción

Dado que se considera que escaldado superficial es el resultado de un proceso oxidativo, se acepta que su severidad es proporcional al grado de oxidación de AF, y que no aparece durante el almacenamiento si el fruto mantiene suficiente contenido de antioxidantes para prevenir o limitar la oxidación de este compuesto. Independientemente del contenido inicial de antioxidantes, el almacenamiento a bajas temperaturas debilita los mecanismos antioxidantes de los tejidos vegetales (Mir et al., 1999), incluyendo las peras (Chiriboga et al., 2013), haciendo que la fruta sea más propensa a desarrollar este desorden fisiológico. Por lo tanto, el equilibrio entre el contenido de especies oxidativas y la capacidad antioxidante de la piel de los frutos juega un papel importante en el desarrollo y la progresión de esta fisiopatía en manzanas y peras (Rao et al., 1998; Diamantidis et al, 2002; Zubini et al., 2007; Whitaker et al, 2009).

Los conocimientos actuales sobre el mecanismo bioquímico responsable del desarrollo del escaldado han demostrado que manzanas y peras siguen un camino similar (Rowan et al, 2001; Isidoro y Almeida, 2006; Whitaker, 2007; Whitaker et al, 2009.; Zubini et al., 2007). Aunque tales similitudes están bien documentadas, existen diferencias notables en la inducción de etileno y el contenido inicial de antioxidantes entre manzanas y peras, que podrían dar lugar a diferencias en la sensibilidad al escaldado superficial. La mayoría de las variedades de manzanas producen etileno después de la cosecha, mientras que la mayoría de las peras, incluyendo “Beurré d’Anjou”, requieren la exposición a bajas temperaturas para iniciar la producción autocatalítica de etileno (Abeles et al., 1992). En relación al contenido de antioxidantes totales, las peras presentan normalmente un menor contenido de antioxidantes que las manzanas (Leontowicz et al., 2003).

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del almacenamiento en atmósfera con bajo oxígeno (LO) y la aplicación de 1-MCP sobre la capacidad antioxidante de peras “Beurré d’Anjou”. Para este propósito, los cambios en la producción de etileno, la acumulación de α -farnesenos y trienos conjugados y la capacidad antioxidante durante el almacenamiento de frutos fueron relacionados con la incidencia de escaldado superficial.

4.2. Materiales y métodos

Material vegetal y condiciones de almacenamiento

Se utilizaron peras “Beurré d’Anjou” (*Pyrus communis* L.) provenientes de la chacra comercial mencionada en el Capítulo 2. Los frutos se cosecharon al azar de la zona media de los árboles el 11 de febrero y se trasladaron al laboratorio del Área Postcosecha del INTA Alto Valle. Se seleccionaron frutos de tamaño homogéneo y libre de defectos que se dividieron en tres lotes, a los que se realizaron los siguientes tratamientos:

- Control: Después de la cosecha los frutos sin tratar se almacenaron en frío convencional (FC) a -0,5 °C.
- LO: Después de la cosecha los frutos se almacenaron en contenedores con Bajo Oxígeno a -0,5 °C. Se estableció un porcentaje mínimo de O₂ de 1,5% y máximo de 2,1% y un porcentaje máximo de CO₂ de 1,3%.

- 1-MCP: Después de la cosecha los frutos se colocaron dentro de un contenedor de 0,86 m³ de acero inoxidable, donde se realizó un tratamiento con 0,3 µL L⁻¹ 1-MCP, pesando las cantidades necesarias de SmartFresh® (0,14% ingrediente activo, Rohm & Haas) en un frasco al que se agregó agua (a 45 °C) para liberar el 1-MCP. Los contenedores se cerraron herméticamente y se puso en marcha los ventiladores dentro de los mismos para asegurar una adecuada distribución del gas dentro del contenedor. La duración del tratamiento fue de 24 h.

Después de los tratamientos, los frutos se embalaron en cajas de cartón con dos bandejas (20 frutas cada una) y bolsa de polietileno de baja densidad de 25 µm de espesor macroperforadas (utilizadas por los empaques de la región para la conservación de fruta en AC).

Determinaciones de madurez

Se realizaron al momento de la cosecha como se detalló en el Capítulo 2, sobre 5 repeticiones de 10 frutos cada una.

Producción de etileno

Se determinó sobre 5 repeticiones de 1 fruto después de 0, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 210 y 240 días a -0,5 °C y durante 30 días de vida en estante a 20 °C. Se determinaron las variables “demora”, “climaterio” y “magnitud” del climaterio en nL g⁻¹ h⁻¹, como se detalló en el Capítulo 2.

Desarrollo de escaldado superficial

Se determinó sobre 5 repeticiones de 10 frutos cada una después de 180, 210 y 240 días a -0,5 °C y 7 días a 20 °C, tal como fue descrito en el Capítulo 2.

Contenido de α-farnesenos (AF) y trienos conjugados (CTols)

Se realizaron después de 0, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 días en -0,5 °C en 10 repeticiones de un fruto cada una, como se detalló en el Capítulo 2.

Capacidad antioxidante total (DPPH)

Se determinó en 5 repeticiones de 10 frutos después de 0, 15, 30, 60, 90, 120, 180 y 240 días a -0,5 °C, tal como se describió en el Capítulo 2.

Contenido de polifenoles

Las determinaciones de polifenoles se realizaron en 10 repeticiones de un fruto, después de 0, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 días en -0,5 °C, como se detalló en el Capítulo 3.

Contenido de Ácido Ascórbico (Vitamina C)

Las determinaciones ácido Ascórbico se realizaron en 6 repeticiones de muestra constituida por la piel de 5 frutos, después de 0, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 días en -0,5 °C, como se detalló en el Capítulo 3.

Peróxidos lipídicos (MDA)

El malondialdehído (MDA) se cuantificó en 5 repeticiones de 5 frutos cada una, después de 0, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 días en -0,5 °C, tal como se describió en el Capítulo 3.

Pérdida de electrolitos

La pérdida de electrolitos en la piel de los frutos se determinó en de 5 repeticiones de 5 frutas cada una, después de 0, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 días en -0,5 °C, como se detalló en el Capítulo 3.

Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) utilizando el software INFOSTAT Profesional / versión 2006p.1. La separación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey con un nivel de significación del 0,05 (valores de p).

4.3. Resultados

Estado de madurez a cosecha

Teniendo en cuenta los valores de referencia regional (Benítez, 2001), al momento de la cosecha los frutos de este ensayo presentaban una madurez avanzada (Cuadro 4.3.1).

Cuadro 4.3.1. Índices de madurez de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 11 de febrero. Los valores representan la media \pm DE.

Índice de madurez	Valor \pm DE
Firmeza (N)	58,5 \pm 0,3
SST (%)	13,0 \pm 0,2
AT (g/L)	2,7 \pm 0,1
Color epidermis (Hue)	118,6 \pm 0,5
Degradación Almidón (%)	53,4 \pm 11,7
Calibre (mm)	71,4 \pm 2,1
Peso (gr)	166,6 \pm 36,5

Producción de etileno

Para todos los tratamientos, la producción de etileno fue indetectable al momento de la cosecha y después de 15 y 30 días de almacenamiento a bajas temperaturas (datos no presentados). Esto indica que los frutos fueron cosechados en estado preclimático. Los frutos control requirieron 45 días a -0,5 °C y 12 días a 20 °C para iniciar la producción de etileno, mientras que en frutos almacenados en LO y los tratados con 1-MCP esta inducción se produjo solamente después de 90 y 210 días de almacenamiento en frío, respectivamente (Cuadro 4.3.2). En los frutos control, el pico climatérico pudo observarse después de 90 días a bajas temperaturas, y se produjo después de 9 días a 20 °C, y al cabo de 7 días a 20 °C para las estancias en frío más largas. En los frutos almacenados en LO, el pico climatérico pudo observarse después de 150 días a bajas

temperaturas, mientras que en los frutos tratados con 1-MCP el pico se produjo después de 240 días (Cuadro 4.3.2). Con respecto a la magnitud del climaterio, en general este valor se incrementó al prolongarse el almacenamiento a bajas temperaturas para los frutos conservados en los distintos sistemas de almacenamiento (Cuadro 4.3.2).

Cuadro 4.3.2. Tiempo hasta empezar a producir etileno (demora), tiempo hasta alcanzar el climaterio (climaterio) y magnitud del climaterio (magnitud) de peras “Beurré d’Anjou” almacenadas en frío convencional (Control), en régimen de bajo oxígeno (LO) y en frío convencional tratadas con 1-MCP (1-MCP), después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Etileno	Cosecha	Tiempo de almacenamiento (días)							
		45	60	90	120	150	180	210	240
Demora (días)	Control	12	5	5	0	0	0	0	0
	LO	nd	nd	19	26	0	0	0	0
	1-MCP	nd	nd	nd	nd	nd	nd	11	2
Climaterio (días)	Control	nd	nd	9	7	7	7	7	7
	LO	nd	nd	nd	nd	10	9	5	7
	1-MCP	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	7
Magnitud ($\text{nl g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	Control	nd	nd	12,6	18,1	19,0	22,5	26,1	56,6
	LO	nd	nd	nd	nd	17,1	14,3	15,6	50,2
	1-MCP	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	43,2

nd: no detectable durante los 30 días de vida en estante ($20\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Escaldado superficial

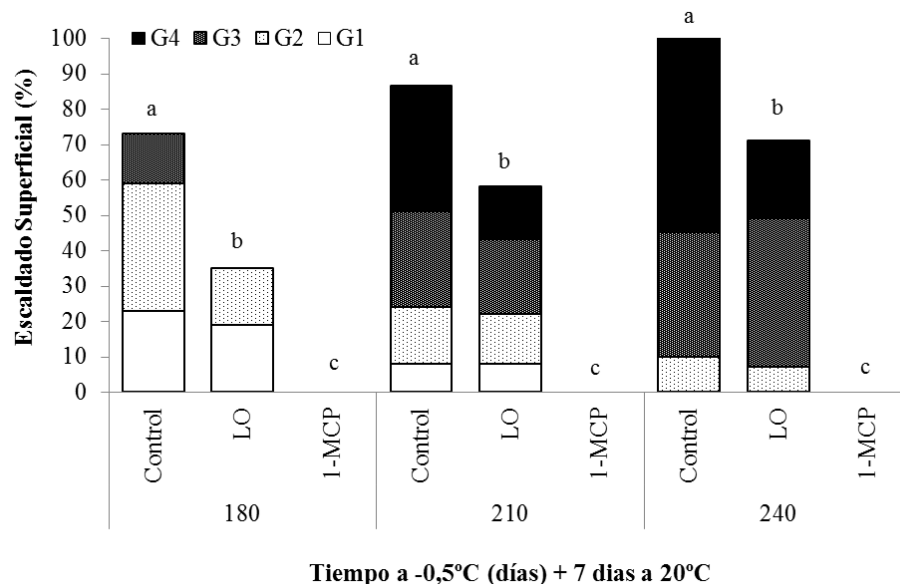


Figura 4.3.1. Incidencia (% de fruta afectada) y severidad (G1, G2, G3, G4) de escaldado superficial de peras “Beurré d’Anjou” almacenadas en frío convencional (Control), en régimen de bajo oxígeno (LO) y en frío convencional tratadas con 1-MCP (1-MCP), después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 7 días a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey $\alpha=0,05$

No se observaron síntomas de escaldado superficial en los frutos en las evaluaciones realizadas a la salida de la cámara (datos no presentados). En cambio, tras

7 días de vida en estante a 20 °C, se desarrollaron síntomas de escaldado en los controles y en los frutos almacenados en LO, en la evaluación realizada después de 180 días, mientras que los frutos tratados con 1-MCP no desarrolló escaldado superficial en ninguna de las evaluaciones realizadas. En cuanto a la severidad, los frutos control presentaron mayor severidad que los almacenados en LO (Figura 4.3.1).

Contenido de α -farnesenos (AF) y trienos conjugados (CTols)

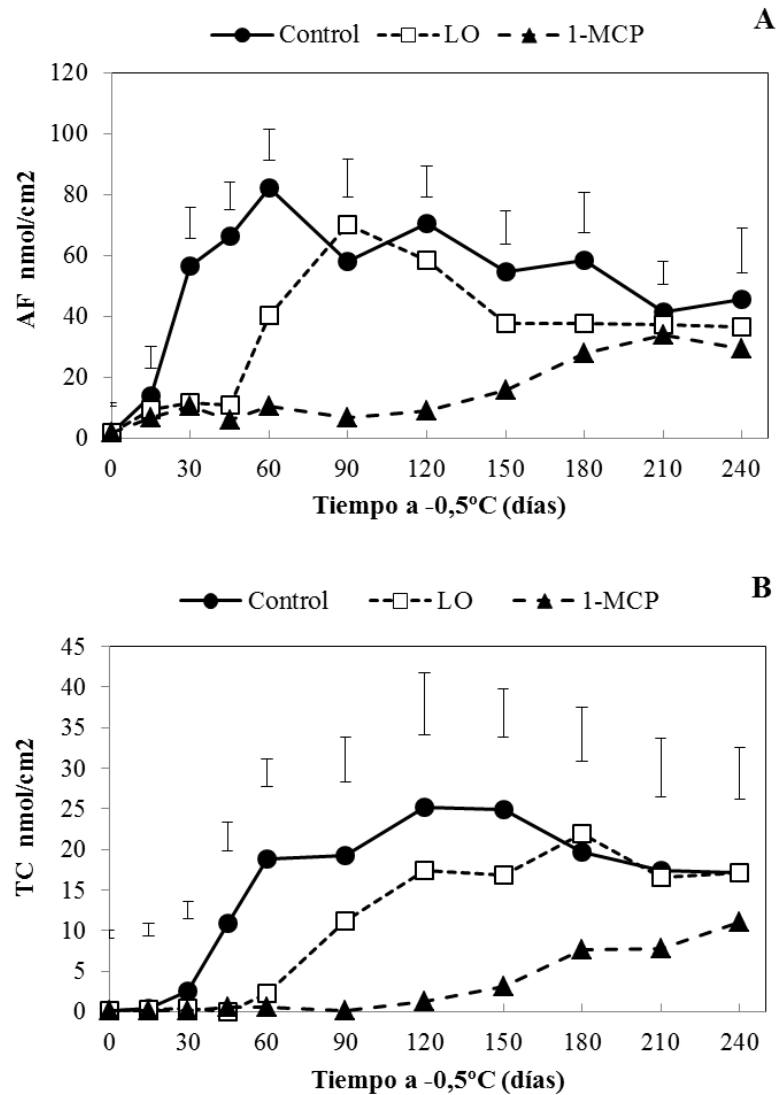


Figura 4.3.2. Contenido de α -farnesenos (A) y trienos conjugados (B) en la piel de peras “Beurré d’Anjou” durante el almacenamiento en frío convencional (Control), en régimen de bajo oxígeno (LO) y en frío convencional tratadas con 1-MCP (1-MCP), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p < 0,05$).

Los frutos control tenían un bajo contenido de α -farnesenos a la cosecha, pero presentaron un brusco incremento hasta alcanzar un máximo de 82 nmol/cm² a los 60 días. Los frutos almacenados en LO presentaron un incremento más lento, a partir de los 45 días y alcanzaron un máximo de 70 nmol/cm² a los 90 días. En los frutos tratados con 1-MCP, el incremento fue paulatino y mucho menor, observándose un máximo de

34 nmol/cm² a los 210 días (Figura 4.3.2A). El contenido de trienos conjugados también difirió entre tratamientos, observándose un incremento más temprano (a partir de los 30 días) en los frutos control que en los frutos LO (a partir de los 60 días) y en estos que en los frutos tratados con 1-MCP (a partir de los 120 días) (Figura 4.3.2B). Asimismo, los frutos control alcanzaron valores superiores a los frutos de LO y estos a los de 1-MCP, lo cual indica una mayor capacidad de presentar escaldado superficial.

Capacidad antioxidante total (DPPH)

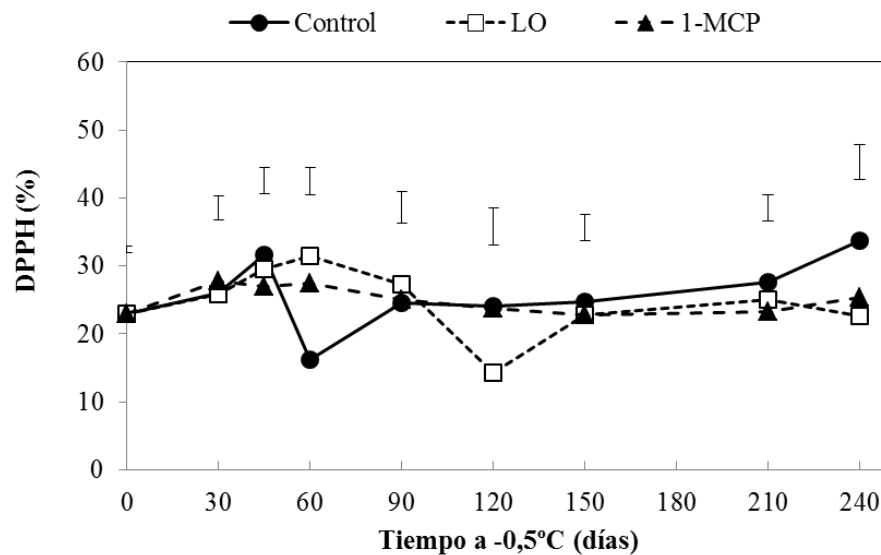


Figura 4.3.3. Cambios en la capacidad antioxidante (DPPH) en la piel de peras “Beurré d’Anjou” almacenadas en frío convencional (Control), en régimen de bajo oxígeno (LO) y en frío convencional tratadas con 1-MCP (1-MCP), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p < 0,05$).

La capacidad antioxidante total de los frutos control se incrementó durante los primeros 45 días, y tuvo un descenso brusco a los 60 días, estabilizándose a partir de los 90 días hasta el final del almacenamiento. En los frutos almacenados en LO, el descenso se produjo después de 120 días, estabilizándose a partir de los 150 días. En el caso de los frutos tratados con 1-MCP, no se observó un descenso pronunciado, y la capacidad antioxidante se mantuvo aproximadamente constante durante todo el periodo evaluado (Figura 4.3.3).

Polifenoles

El contenido de polifenoles totales varió de manera similar a la capacidad antioxidante total medida por e DPPH para cada tratamiento. En los controles, los polifenoles descendieron de 4,20 a 2,29 (mg ácido Gálico/100 mL) después de 60 días de almacenamiento, coincidiendo con el descenso de la capacidad antioxidante total. A partir de allí, el contenido de polifenoles se incrementó hasta alcanzar valores de 4,21 unidades al final del almacenamiento. En los frutos almacenados en bajo oxígeno (LO), se produjo un descenso hasta los 45 días, y a partir de allí un incremento más gradual que el observado en los controles, alcanzando al final del almacenamiento valores de 3,66 mg ácido Gálico/100 mL muestra. Por otro lado, los frutos tratados con 1-MCP

presentaron un descenso durante los primeros 30 días de almacenamiento y después valores más estables y superiores entre los 60 y 180 días de almacenamiento (Figura 4.3.4).

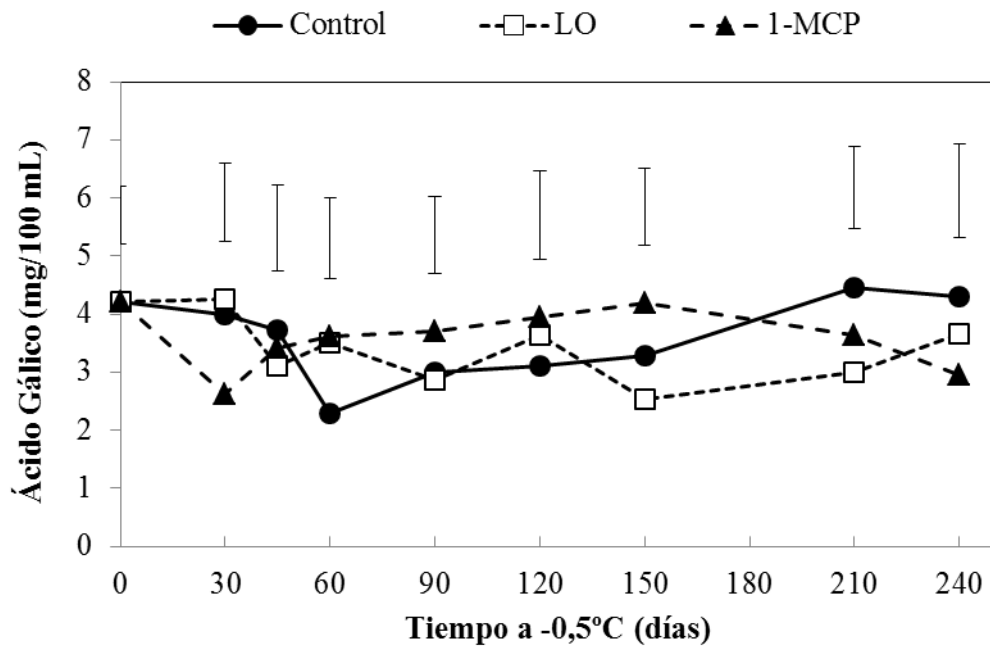


Figura 4.3.4. Polifenoles totales en la piel de peras “Beurré d’Anjou” almacenadas en frío convencional (Control), en régimen de bajo oxígeno (LO) y en frío convencional tratadas con 1-MCP (1-MCP), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p < 0,05$).

Contenido de Ácido ascórbico (Vit C)

El contenido de ácido ascórbico a cosecha fue de 8,03 mg/100 g y descendió a lo largo del almacenamiento a -0,5 °C en todos los tratamientos. Los frutos control y almacenados en LO mostraron un descenso similar, llegando a valores de 1,26 y 2,00 al final del almacenamiento, respectivamente. Sin embargo, los frutos tratados con 1-MCP mantuvieron mayores valores en todas las evaluaciones, excepto a los 150 días, y al final del almacenamiento mantenían valores de 4,33 mg/100 g (Figura 4.3.5).

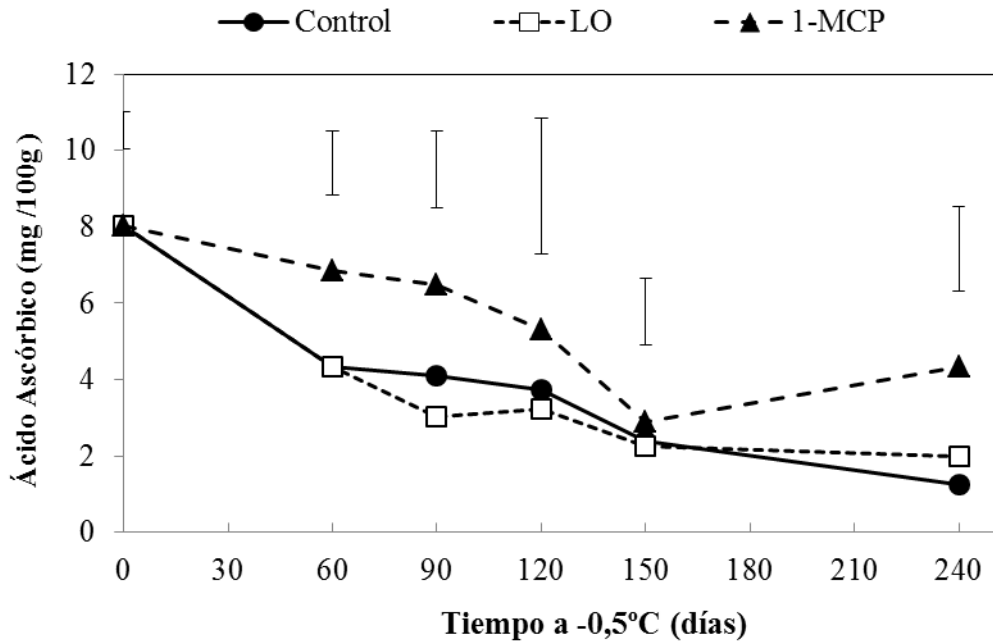


Figura 4.3.5. Contenido de Ácido Ascórbico en la piel de peras “Beurré d’Anjou” almacenadas en frío convencional (Control), en régimen de bajo oxígeno (LO) y en frío convencional tratadas con 1-MCP (1-MCP), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p < 0,05$).

Peroxidación de lípidos y pérdida de electrolitos

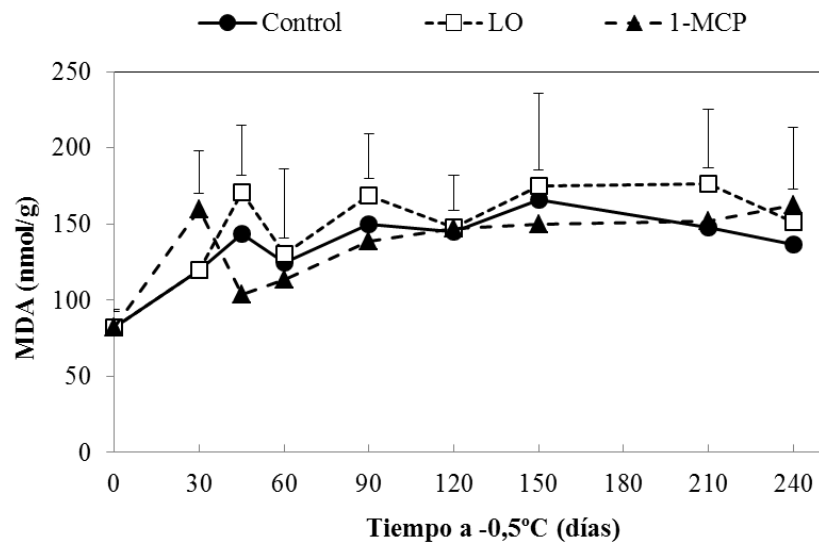


Figura 4.3.6. Peroxidación lipídica (MDA) en la piel de peras “Beurré d’Anjou” almacenadas en frío convencional (Control), en régimen de bajo oxígeno (LO) y en frío convencional tratadas con 1-MCP (1-MCP), después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p < 0,05$).

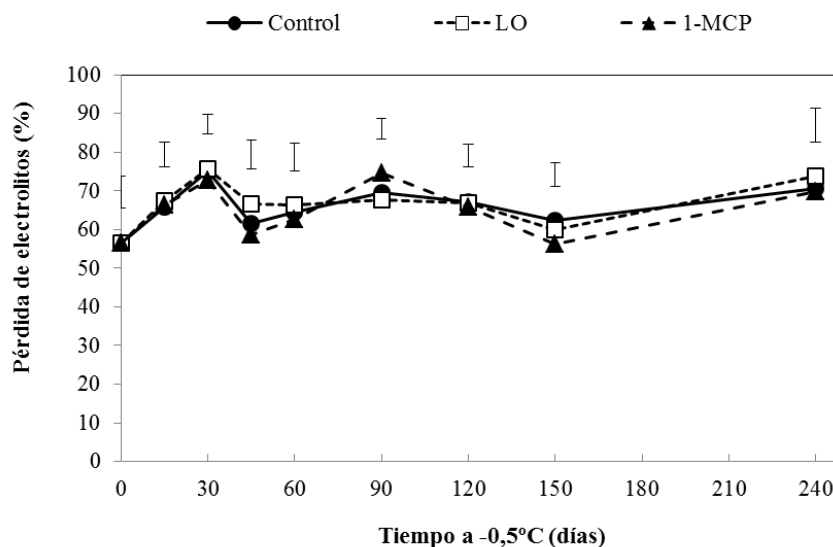


Figura 4.3.7. Pérdida de electrolitos en la piel de peras “Beurré d’Anjou” almacenadas en frío convencional (Control), en régimen de bajo oxígeno (LO) y en frío convencional tratadas con 1-MCP (1-MCP), después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5^{\circ}\text{C}$. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p < 0,05$).

La peroxidación lipídica (MDA) y la pérdida de electrolitos fluctuaron a lo largo del almacenamiento con una tendencia creciente y sin diferencias significativas entre los tratamientos (Figuras 4.3.6 y 4.3.7). Esto sugiere que las bajas temperaturas causaron daño en las membranas y que dicho daño no fue afectado por ninguno de los tratamientos. Los frutos de los tres tratamientos exhibieron muy baja integridad de membrana al final del almacenamiento (70 a 73% de pérdida de electrolitos en la piel de los frutos (Figura 4.3.7).

4.4. Discusión

El modelo en los frutos Control: Producción de etileno, contenido de α -farnesenos y trienos conjugados, capacidad antioxidante y su relación con el escaldado superficial

Con los datos obtenidos en este ensayo y las relaciones ente la producción de etileno, la síntesis de α -farnesenos y su oxidación a trienos conjugados, la capacidad antioxidante total y el desarrollo de escaldado, se estableció un modelo para los frutos control (Figura 4.4.1). La acumulación de α -farneseno en la piel de peras “Beurré d’Anjou” está regulada por la producción de etileno (Bai et al, 2009; Gapper et al., 2006). En este ensayo, los frutos control produjeron cantidades detectables de etileno a partir de los 45 días de almacenamiento (Cuadro 4.3.2), lo que se tradujo en una rápida acumulación de α -farneseno hasta alcanzar un máximo de $82,19 \text{ nmol/cm}^2$ a los 60 días (Figura 4.3.2A) y su posterior descenso debido a su oxidación a CTols (Figura 4.3.2B). Los AF tuvieron un incremento desde los 15 días, a pesar de no haber comenzado la producción de etileno. Esto fue observado previamente en el Capítulo 2, sugiriendo que la síntesis de AF en peras “Beurre D’Anjou” no dependería exclusivamente del etileno y que otros factores, tales como el almacenamiento a bajas temperaturas, podrían modular su síntesis. La concentración y el momento de aparición de los CTols determina la severidad de escaldado en los frutos (Anet, 1972). En ensayos anteriores

realizados en este mismo cultivar, se definió un valor umbral crítico de CTols de 20 nmol/cm² por encima del cual se observaron síntomas de escaldado (Calvo y Candan, 2012). En este ensayo, los valores críticos de CTols (20 nmol/cm²) en los frutos control se alcanzaron después de los 60 días (Figura 4.3.2B). La incidencia de escaldado en estos frutos fue de 73%, 86% y 100% después de 180, 210 y 240 días de almacenamiento, respectivamente (Figura 4.3.1).

El contenido de polifenoles totales (Figura 4.3.4) mostró un patrón similar al observado para la capacidad antioxidante total medida con DPPH (Figura 4.3.3), sugiriendo que los mismos contribuyen de manera significativa a la capacidad antioxidante total en peras “Beurré d’Anjou”. En los frutos control, el contenido de polifenoles (Figura 4.3.4) y de ácido ascórbico (Figura 4.3.5) se redujo durante la primera etapa del almacenamiento, resultando en un descenso brusco de la capacidad antioxidante (DPPH) a los 60 días (Figura 4.3.3). Paralelamente, transcurridos 60 días de almacenamiento se observó también el pico de acumulación de α -farneseno (Figura 4.3.2A). El alto contenido de α -farnesenos y la baja capacidad antioxidante observados en este momento se asocian a una rápida acumulación de CTols, que alcanzan el umbral crítico a los 60 días (Figura 4.3.2B). Los CTols son compuestos altamente reactivos y tóxicos para las células (Du y Bramlage, 1993), y su presencia implica una condición de estrés para los frutos que determina el desarrollo posterior del escaldado.

Aunque se supone que el escaldado es el resultado de un proceso oxidativo, las relaciones entre los niveles de antioxidantes endógenos y la incidencia de escaldado todavía no están claramente definidos. Ju, et al., (1996) observaron que los fenoles simples y los flavonoides se correlacionaron positivamente con el escaldado mientras que la tendencia opuesta fue observada para el contenido de antocianinas en manzanas “Delicious” y “Ralls”. Del mismo modo, Rudell y Mattheis (2009) encontraron que las concentraciones de α -tocoferol disminuyeron durante el almacenamiento, a medida que se incrementó la severidad de escaldado. En contraste, ningún antioxidante individual pudo asociarse de forma clara con el escaldado en otros estudios (Barden y Bramlage, 1994). En este ensayo, se pudo asociar la disminución de la capacidad antioxidante a la pérdida inicial del contenido de ácido ascórbico. La síntesis de polifenoles pareciera ser la respuesta de los frutos ante el incremento de CTols. Los CTols podrían estar involucrados en la peroxidación de los lípidos de membrana, una acción que en última instancia perturba la organización celular provocando su ruptura (Du y Bramlage, 1993). La peroxidación lipídica y la pérdida de electrolitos fluctuaron a lo largo del almacenamiento con una tendencia creciente (Figuras 4.3.6 y 4.3.7), como resultados del proceso oxidativo.

Efecto del LO y 1-MCP sobre la producción de etileno, el contenido de α -farnesenos y trienos conjugados, capacidad antioxidante y su relación con el escaldado superficial

El almacenamiento de peras “Beurré d’Anjou” en LO inhibió la producción de etileno hasta los 90 días de almacenamiento (Cuadro 4.3.2) y como resultado de ello la cadena de eventos posteriores se vio moderada. Se observó un retraso en la acumulación α -farneseno, que alcanza el valor máximo 70,28 nmol/cm² después de 90 días y de CTols (Figura 4.3.2), tal como fue observado por Piretti et al. (1994), Whitaker et al. (1997), Wang y Dilley (2000) y Whitaker (2000). Los valores críticos de CTols se alcanzaron a los 180 días en los frutos almacenados en LO (Figura 4.3.2B) lo que redujo significativamente la incidencia de escaldado superficial con respecto al control (Figura 4.3.1). Chen et al. (1993) determinaron que el control del escaldado en peras “Beurré

d’Anjou” conservadas en 0,5% de O₂ se asoció con la menor acumulación de α -farnesenos y de CTols en los frutos. En los frutos almacenados en LO, la acumulación de α -farnesenos fue más lenta y el descenso brusco de capacidad antioxidante total se produjo a los 120 d (Figura 4.3.3), 60 días más tarde que en el control.

El tratamiento con 1-MCP inhibió la producción de etileno hasta los 210 días de almacenamiento (Cuadro 4.3.2). Debido a ello, la acumulación, tanto de α -farnesenos como de CTols (Figura 4.3.2), fue muy inferior a la observada en el control y en los frutos almacenados en LO. Por otro lado, los frutos tratados con 1-MCP mantuvieron mayores valores de polifenoles (Figura 4.3.4) y de ácido ascórbico (Figura 4.3.5), lo cual se tradujo en un valor aproximadamente constante de la capacidad antioxidante total (Figura 4.3.3) sin observarse un descenso brusco, como en el control o en los frutos almacenados en LO. Probablemente, la menor acumulación de α -farnesenos y el mantenimiento de la capacidad antioxidante en los frutos tratados con 1-MCP determinó que no se alcance el umbral crítico de CTols (el mayor valor fue de 11,05 nmol/cm² después de 240 d) (Figura 4.3.2b) y que los frutos no desarrollen escaldado (Figura 4.3.1). Estos frutos tampoco presentaron un incremento tardío en la síntesis de polifenoles (Figura 4.3.4). Resultados similares fueron observados por varios autores (Bai et al, 2009; Gapper et al, 2006; Fan y Mattheis., 1999; Isidoro et al, 2006; Watkins et al, 2000; Xie et al., 2014). Gapper et al. (2006) demostraron que el 1-MCP inhibe la expresión del gen α -farneseno sintasa PcAFS1 inducido por el etileno en las peras “Beurré d’Anjou” y por tanto la síntesis del α -farneseno, lo que resulta en la inhibición del escaldado. No se observó un efecto del almacenamiento en LO o del tratamiento con 1-MCP en la peroxidación de lípidos o en la pérdida de electrolitos (Figuras 4.3.6 y 4.3.7).

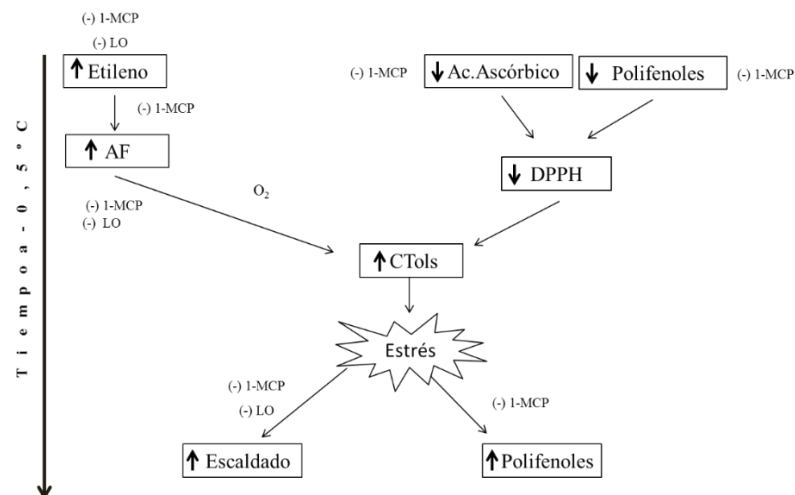


Figura 4.4.1. Modelo de desarrollo de escaldado superficial en de peras “Beurré d’Anjou” almacenadas en frio convencional (Control). En el modelo se muestran las principales relaciones entre los compuestos que intervienen en el desarrollo de esta fisiopatía: síntesis de CTols a partir del etileno y acción de los antioxidantes endógenos (ácido ascórbico, polifenoles, DPPH). Al romperse el equilibrio entre sustancias oxidantes y capacidad antioxidante, se acumulan los CTols y se genera un estrés que concluye en el desarrollo de escaldado superficial. Se muestran además, los puntos de control mediante LO y 1-MCP.

4.5. Conclusiones

El almacenamiento en bajo O₂ de peras “Beurré d’Anjou” retrasó el inicio de la producción de etileno, la acumulación de α -farneseno, y su oxidación, por lo cual la incidencia de escaldado fue menor. Su efecto sobre la capacidad antioxidante fue el de demorar su descenso brusco pero sin afectar el contenido de ácido ascórbico.

El tratamiento con 1-MCP tuvo un efecto mayor en la reducción de la producción de etileno, la acumulación α -farneseno, y su oxidación, inhibiendo en forma absoluta la incidencia de escaldado. No se observó un descenso brusco de la capacidad antioxidante, pero sí un mejor mantenimiento del contenido de polifenoles y de ácido ascórbico. Por lo tanto, el 1-MCP controla el escaldado, no solo por su efecto sobre el etileno, α -farneseno, y su oxidación, sino también por favorecer el mantenimiento de los niveles de compuestos antioxidantes como polifenoles y ácido ascórbico.

**PARTE II: DESARROLLO DE SISTEMAS DE CONTROL DE ESCALDADO
SUPERFICIAL EN PERAS “BEURRE D’ ANJOU”**

CAPITULO 5.

Definición de las alternativas de control más eficaces

5.1. Introducción

Los posibles métodos de control tienen por objeto evitar la formación de α -farneseno, favorecer su eliminación y sobre todo impedir su oxidación. Una nueva tendencia en la AC comercial es la utilización de una atmosfera dinámica (ACD), en lugar de una atmósfera controlada estática. Mattheis y Rudell (2011) y Candan y Calvo (2009) demostraron en peras “Beurré d’Anjou” que esta técnica inhibe el desarrollo de escaldado. Sin embargo, puede provocar la aparición de pecas negras así como un insuficiente ablandamiento durante la vida en estante de los frutos (Mattheis y Rudell, 2011), y la aparición de cavernas (Candan y Calvo, 2009).

El 1-metilciclopropeno (1-MCP) ha demostrado ser efectivo en inhibir la acción del etileno, mantener la calidad de los frutos y reducir la incidencia de escaldado (Blankenship y Dole, 2003, Watkins y Miller, 2005, Sozzi y Beaudry, 2007). La introducción de SmartFresh® en la industria argentina de las manzanas en 2002 ha resultado en una reducción del ablandamiento y de la escaldadura superficial en la mayoría de las variedades cultivadas en la región (Calvo, 2002; Calvo y Candan, 2003; Calvo, 2004a,b,c; Calvo y Macadam, 2005; Candan y Calvo, 2009). En lo que respecta a las peras, se han realizado numerosos ensayos en la región (Candan y Calvo, 2002; Calvo y Candan, 2003; Calvo, 2004b; Calvo y Sozzi, 2004; Calvo y Candan, 2014). Sin embargo, su uso en esta especie es potencialmente problemático debido a que el efecto residual que tiene sobre la firmeza no se disipa fácilmente durante un período razonable de comercialización después del almacenamiento en frío (Chen y Spotts, 2005). Actualmente se aplica a nivel comercial en las variedades “Williams”, “Packhams Triumph”, “Beurré d’Anjou” y “Abate Fetel” con recomendaciones específicas para cada una de ellas (Agrofresh, comunicación personal).

La aplicación de putrescina en peras, al reducir la síntesis de etileno, podría reducir la incidencia de escaldado. Sin embargo, Fuentes et al., (2012) observaron que los tratamientos con poliaminas realizados por inmersión no fueron efectivos en el control del escaldado y favorecieron el desarrollo de podredumbres en peras “Packhams Triumph” y manzanas “Granny Smith”.

Los tratamientos con altas temperaturas previos al almacenamiento retrasan la producción de etileno, reducen los niveles de α -farnesenos y CTols (Lurie y Klein, 1990) y pueden incrementar la actividad antioxidante de los frutos (Shaham et al., 2003), por consecuencia reducirían el escaldado. Esto pudo comprobarse en manzanas (Lurie et al., 1990; Combrink et al., 1994). Sin embargo, en ensayos previos realizados en manzanas “Granny Smith” y en peras “Packhams Triumph” estos tratamientos fueron ineficaces para reducir este desorden (Fuentes et al, 2012).

La aplicación de radiación ultravioleta de alta energía (UVC, 254 nm) en frutos retrasa los procesos asociados con la maduración y senescencia (Civello et al., 2006). Los tratamientos con UVC incrementaron la acumulación de antioxidantes en uvas (Nigro et al., 1998) y redujeron la producción de etileno en tomates (Stevens et al., 2004). En consecuencia, es razonable suponer que la aplicación de un tratamiento con UVC podría disminuir el escaldado superficial en peras.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la efectividad de distintas estrategias como alternativas para el control de la escaldadura superficial en peras “Beurré d’Anjou”,

incluyendo la reducción de la síntesis o acción del etileno (aplicación de poliaminas, 1-MCP), el almacenamiento con bajo oxígeno (AC, ACD) y la aplicación de condiciones de estrés antes del almacenamiento (UVC, tratamiento térmico).

5.2. Materiales y métodos

Material vegetal y condiciones de almacenamiento

Se utilizaron peras “Beurré d’Anjou” (*Pyrus communis* L.) provenientes de la misma chacra comercial mencionada en el Capítulo 2. Los frutos se cosecharon el 4 de febrero (cosecha óptima) y se separaron en 8 lotes homogéneos en cuanto a tamaño y calidad. Se realizaron 3 repeticiones de cada tratamiento. Los tratamientos realizados fueron:

- Control: Frutos que se lavaron y se almacenaron en frío convencional (FC) a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ en canastos plásticos de 60 frutos cada uno, sin ningún tratamiento.
- Etoxiquina: Frutos que se trataron a la cosecha con Equinox® (50% v/v ingrediente activo, Industrias Químicas Washington), mediante un tratamiento con duchas (“drencher”) de 1 minuto de duración. Después del tratamiento, los frutos se dejaron escurrir, y se almacenaron en FC a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ en canastos plásticos con 60 frutos cada uno.
- AC: Frutos que se almacenaron en contenedores herméticos de $0,86\text{ m}^3$ de acero inoxidable y en los cuales se generó una atmósfera de 1,5% de O_2 y 1% de CO_2 , mediante barrido por nitrógeno.
- ACD: Frutos almacenados en contenedores herméticos de $0,86\text{ m}^3$ de acero inoxidable, donde se generó una atmósfera controlada dinámica en pasos: 1) descenso inicial hasta 2% v/v O_2 y 1% v/v CO_2 ; 2) descenso diario de 0,1% O_2 por barrido o por respiración de la fruta. El equipo contaba con sensores de fluorescencia, situado en una caja de plástico conteniendo una muestra de 6 frutas, y que emite una luz a partir de lámparas LED. Una porción de la luz absorbida por la clorofila es re-emitida como fluorescencia. En particular, los frutos sometidos a condiciones de estrés presentan una mayor emisión de fluorescencia proveniente de la clorofila. De este modo, cuando el nivel de oxígeno es muy bajo aumenta la fluorescencia emitida por la clorofila lo cual indica que se han alcanzado condiciones de estrés. Cuando los valores de fluorescencia indicaron el inicio del estrés, se corrigió la composición gaseosa mediante inyección automática de O_2 de modo de provocar un aumento del 0,2% en su concentración. En esta etapa, el CO_2 se mantuvo entre valores de 0,8 y 1,0%.
- Poliaminas: Los frutos se trataron inmediatamente después de cosecha por inmersión durante 6 minutos en 20 L de solución 2 mM de putrescina (P7505, Sigma®) con 0,1% v/v de Tween 20. Los frutos se colocaron dentro de bolsas de red, permitiendo que la solución de poliaminas circule entre los mismos. Después del tratamiento, los frutos se dejaron escurrir y se almacenaron en FC a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ en canastos plásticos con 60 frutos cada uno.
- 1-MCP: Los frutos se colocaron dentro de un contenedor de $0,86\text{ m}^3$ de acero inoxidable, donde se realizó un tratamiento con $0,3\text{ }\mu\text{L L}^{-1}$ 1-MCP, pesando las cantidades necesarias de SmartFresh® (0,14% m/v ingrediente activo, Rohm & Haas) en un frasco al que se le agregó 20 mL de agua (a $45\text{ }^{\circ}\text{C}$) para liberar el 1-MCP. Los contenedores se cerraron herméticamente y se pusieron en marcha los ventiladores dentro de los mismos para asegurar una distribución homogénea del

gas. Después de 24 h de tratamiento, los frutos se almacenaron en canastos plásticos con 60 frutos cada uno a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

- UVC: El tratamiento con UVC se realizó dentro de una cámara cúbica de 90 cm de lado, provista en su parte superior interna con diez lámparas (TUV G 30T8, 30 W, 90 cm longitud, $\lambda = 254\text{ nm}$, Philip, Holland) dispuestas a 8 cm de distancia entre cada una de ellas. Los frutos se colocaron sobre bandejas de pulpa de celulosa moldeada a 15 cm de los tubos y se irradiaron durante 2 minutos, logrando una dosis de $2,7\text{ KJ/m}^2$. A fin de asegurar una exposición uniforme a la luz UVC sobre toda la superficie de los frutos, cada fruta se giró manualmente después de los tiempos especificados. La intensidad de flujo de las lámparas fue medida con un radiómetro digital (Cole- Parmer Instrument Company, Vernon Hills, Illinois, USA). Después de los tratamientos los frutos se almacenaron a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ en aire, en canastos plásticos conteniendo 60 frutos cada uno.
- Tratamiento Térmico: Este tratamiento se llevó a cabo sumergiendo los frutos en agua a $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante 1 minuto. Los frutos se colocaron dentro de bolsas de red, permitiendo que el agua caliente circule entre los mismos. Para ello, se utilizó un baño termostático de acero inoxidable (Química Elfand S.A., Buenos Aires, Argentina), a fines de mantener constante la temperatura del agua. Asimismo, la temperatura se controló durante cada tratamiento con un termómetro digital. Posteriormente los frutos se dejaron escurrir, y se almacenaron a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ en aire, en canastos plásticos con 60 frutos cada uno.

Determinaciones de madurez

Se determinó antes de los tratamientos (madurez inicial) y después de 210 y 270 días de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ sobre 5 repeticiones de 10 frutos cada una, como se describió en el Capítulo 2.

Producción de etileno

Se determinó sobre 5 repeticiones de 1 fruto después de 210 y 270 días a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y durante 30 días de vida en estante a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, como se detalló en el Capítulo 2.

Análisis del escaldado superficial

Se determinó la incidencia y la severidad sobre 5 repeticiones de 10 frutos cada una después de 210 y 270 días a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 7 días a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y los resultados se expresaron con el índice IES tal como fue descrito en el Capítulo 2.

Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) utilizando INFOSTAT Profesional Software / versión 2006p.1. La separación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey con un nivel de significación del 0,05 (valores de p).

5.3. Resultados

Índices de madurez a cosecha

Cuadro 5.3.1. Índices de madurez de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 4 de febrero. Los valores representan la media \pm DE.

Índice de madurez	Valor \pm DE
Firmeza (N)	59,9 \pm 5,1
SST (%)	11,1 \pm 0,5
AT (g L ⁻¹)	2,8 \pm 0,1
Color (hue)	120,0 \pm 3,4
Degradación Almidón (%)	49,8 \pm 9,0

Con respecto a los índices de madurez de referencia determinados por Benítez (2001), la fruta utilizada en este ensayo tenía una madurez óptima, con una firmeza de 8,5 N menos que la recomendada para el inicio de la cosecha (Cuadro 5.3.1). Los frutos control ya estaban produciendo etileno al finalizar cada periodo de almacenamiento y alcanzaron el pico climatérico después de 10 y 8 días en los frutos conservados 210 y 270 días respectivamente (Figura 5.3.1.A,B). El único tratamiento que afectó significativamente la producción de etileno fue el 1-MCP, que la inhibió completamente después de 210 días (Figura 5.3.1A) y la redujo significativamente después de 270 días de almacenamiento (Figura 5.3.1B).

Después de 210 días de almacenamiento, los frutos tratados con el resto de los tratamientos, produjeron el pico de etileno el mismo día que el control, incluso algunos los produjeron unos días antes (AC, poliaminas y tratamiento térmico). En los frutos tratados con UVC no se observaron diferencias en el día de aparición del pico pero sí en su magnitud, que en el control fue de 26,7 nl g⁻¹ h⁻¹ y en UVC de 10,6 nl g⁻¹ h⁻¹ (Figura 5.3.1 A). Después de 270 días de almacenamiento los frutos control produjeron el pico climatérico al cabo de 8 días, con una magnitud entre 32 nl g⁻¹ h⁻¹. Los frutos tratados con etoxiquina, poliaminas, UVC y los almacenados en AC produjeron el pico el mismo día que el control. Los frutos tratados con 1-MCP redujeron significativamente la producción de etileno y los almacenados en ACD presentaron un retraso de 5 días en el pico, con respecto al control (Figura 5.3.1B).

Producción de etileno e Índices de madurez

Los controles perdieron firmeza (17,2 y 23,7 N), acidez (1,08 y 1,86 g L⁻¹) y color verde (7,6 y 11,7 Hue), respecto a los valores iniciales (Cuadro 5.3.1), durante el almacenamiento refrigerado, lo que se acentuó durante la vida en estante (Cuadro 5.3.2 y 5.3.3). Después de 210 días a -0,5 °C los frutos control tenían una firmeza promedio de 42,7 N, y se ablandaron después de 7 días a 20 °C, alcanzando valores de firmeza de 15,6 N. Inmediatamente después de la salida, todos los tratamientos excepto el UVC redujeron la pérdida de firmeza, siendo la conservación en ACD y el tratamiento con 1-MCP los más efectivos. Sin embargo, el efecto no se mantuvo durante la vida en estante de los frutos, ya que presentaron valores de firmeza inferiores a los 20 N (Cuadro 5.3.2). El único tratamiento efectivo para reducir la pérdida de firmeza durante la vida en estante para las dos salidas de cámara fue el 1-MCP. En cuanto al color, el almacenamiento en ACD fue el más efectivo para mantener el color verde después de ambos periodos de almacenamiento (valores más altos del parámetro Hue, Cuadro

5.3.2). Así mismo, el 1-MCP redujo efectivamente la pérdida color verde y de acidez durante la vida en estante (Cuadro 5.3.2).

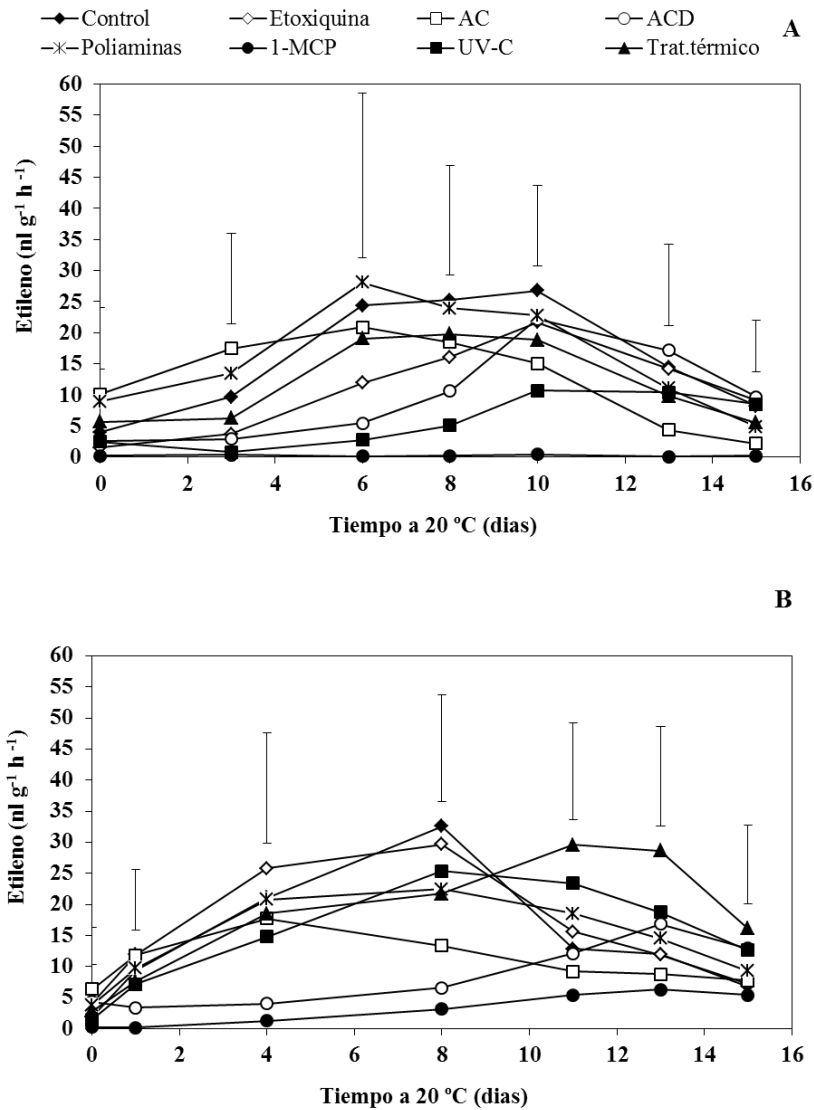


Figura 5.3.1. Producción de etileno de peras “Beurré d’Anjou” tratadas con distintas alternativas para el control de escaldado superficial y evaluadas durante la vida en estante (20 °C) después de 210 (A) y 270 (B) días de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (1 fruto por repetición) y las líneas verticales indican el valor de DMS ($p < 0,05$).

Cuadro 5.3.2. Índices de madurez de peras “Beurré d’Anjou” tratadas con distintas alternativas para el control de escaldadura superficial y evaluados después de 210 días de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C.

Tiempo a 20 °C (días)	Tratamiento	Firmeza (N)	SST (%)	AT (g L ⁻¹)	Color (Hue)
0	Control	42,7 c	12,2 b	1,8 ab	112,4 bc
	Etoxiquina	46,5 b	11,9 bc	1,6 bc	111,8 c
	AC	46,1 b	12,1 b	1,6 bc	115,1 b
	ACD	55,6 a	11,8 bc	1,6 b	118,2 a
	Poliaminas	46,5 b	11,7 c	1,7 b	112,3 bc
	1-MCP	54,3 a	13,00 a	1,9 a	113,8 bc
	UVC	41,6 c	12,1 b	1,3 c	107,2 d
	Trat.Térmico	47,1 b	12,0 bc	1,6 bc	111,1 c
	<i>Valor de p</i>	<i><0,0001</i>	<i><0,0001</i>	<i><0,0001</i>	<i><0,0001</i>
7	Control	15,7 bcd	12,2 a	1,6 b	105,5 bc
	Etoxiquina	15,7 bcd	12,9 a	1,1 cd	105,2 c
	AC	11,0 e	12,6 a	1,3 bcd	108,7 b
	ACD	14,5 cd	12,9 a	1,4 bcd	114,0 a
	Poliaminas	16,0 bc	12,1 a	1,5 bc	108,2 bc
	1-MCP	50,3 a	12,4 a	2,2 a	115,2 a
	UVC	18,8 b	12,5 a	1,1 d	105,2 c
	Trat.Térmico	12,4 de	12,0 a	1,3 bcd	106,5 bc
	<i>Valor de p</i>	<i><0,0001</i>	<i>0,0531</i>	<i><0,0001</i>	<i><0,0001</i>

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

En la evaluación realizada después de 270 días, solo la ACD y el 1-MCP tuvieron diferencias significativas en firmeza y en color con respecto al control, presentando valores superiores a 50 N y 114 de hue. Después de 7 días a 20 °C, solo los frutos tratados con 1-MCP se mantuvieron más firmes que el control, pero todos los otros tratamientos salvo el UVC mantuvieron mejor el color verde, siendo la ACD y el 1-MCP los más efectivos (Cuadro 5.3.3).

Cuadro 5.3.3. Índices de madurez de peras “Beurré d’Anjou” tratadas con distintas alternativas para el control de escaldadura superficial y evaluados después de 270 días de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C.

Tiempo 20 °C (días)	Tratamiento	Firmeza (N)	SST (%)	AT (g L ⁻¹)	Color (Hue)
0	Control	36,3 b	13,7 abc	0,9 c	108,2 cde
	Etoxiquina	43,1 b	12,9 c	1,1 c	107,1 e
	AC	35,2 b	14,2 ab	1,2 bc	111,1 bc
	ACD	55,1 a	13,9 abc	1,6 ab	118,1 a
	Poliaminas	38,4 b	13,6 abc	1,1 c	110,3 cd
	1-MCP	53,6 a	14,4 ab	1,6 a	114,3 b
	UV-C	34,4 b	14,6 a	0,9 c	101,0 f
	Trat.Térmico	36,0 b	13,4 bc	1,0 c	107,6 de
	Valor de p	<0,0001	0,0021	<0,0001	<0,0001
7	Control	18,3 bc	13,5 ab	0,9 c	96,5 c
	Etoxiquina	18,5 bc	11,7 c	1,01 c	103,0 b
	AC	11,3 c	14,5 ab	1,1 c	103,95 b
	ACD	11,8 bc	14,97 a	1,5 ab	111,2 a
	Poliaminas	16,38 bc	13,5 ab	1,2 bc	104,4 b
	1-MCP	38,7 a	14,2 ab	1,7 a	110,7 a
	UV-C	19,71 b	13,7 ab	0,9 c	94,1 c
	Trat.Térmico	18,9 bc	13,0 bc	1,1 c	103,2 b
	Valor de p	<0,0001	0,0003	<0,0001	<0,0001

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Escaldado Superficial

Cuadro 5.3.4. Índice de escaldado superficial (IES) en peras “Beurré d’Anjou” tratadas con distintas alternativas de control en cosecha y evaluadas luego de 210 (A) y 270 días (B) de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C.

Tratamiento	Días a -0,5 °C	
	210	270
Control	3,2 a	3,5 a
Etoxiquina	0,3 c	1,2 bc
AC	0,2 c	1,3 bc
ACD	0,0 c	0,3 c
Poliaminas	2,5 b	3,2 a
1-MCP	0,0 c	0,4 c
UV-C	2,1 b	2,1 b
Trat.Térmico	3,7 a	3,2 a
Valor de p	<0,0001	<0,0001

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

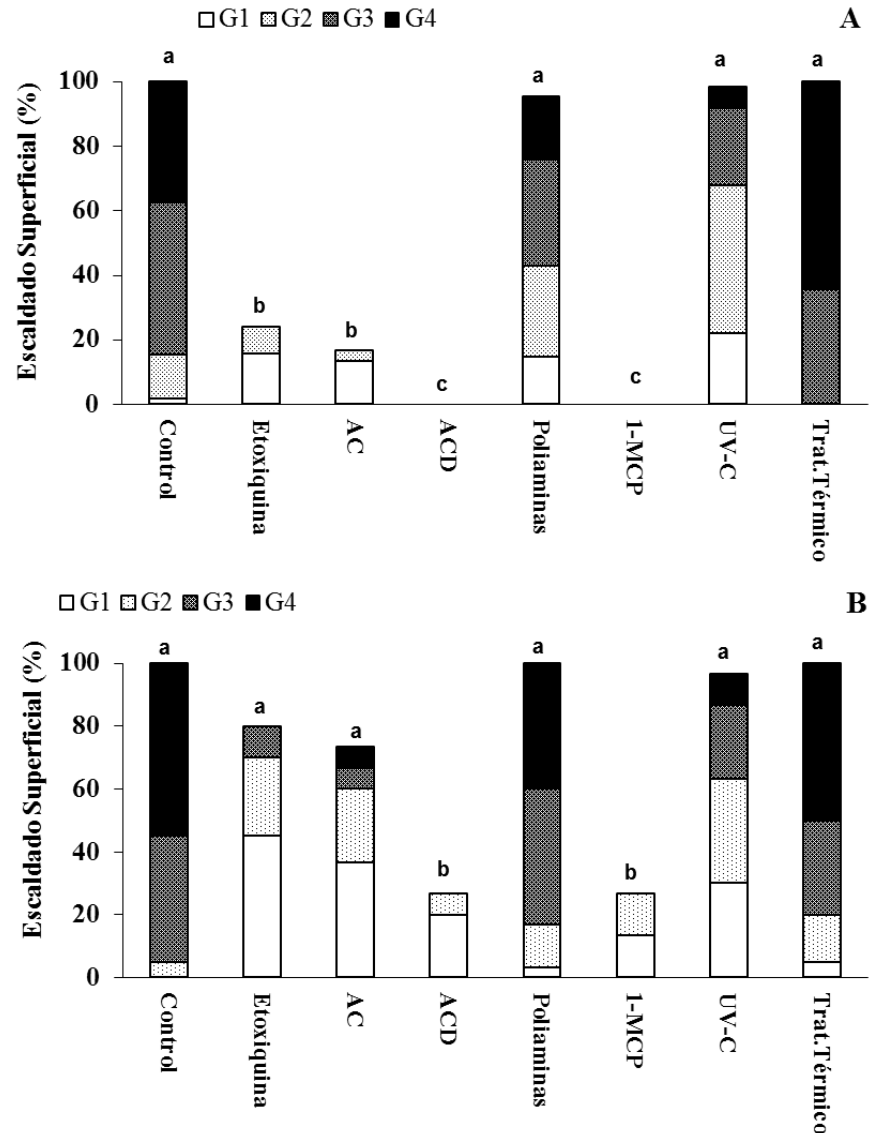


Figura 5.3.2. Incidencia y severidad de escaldadura superficial en peras “Beurré d’Anjou” tratadas con distintas alternativas de control en cosecha y evaluadas luego de **210 (A) y 270 días (B)** de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 7 días a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

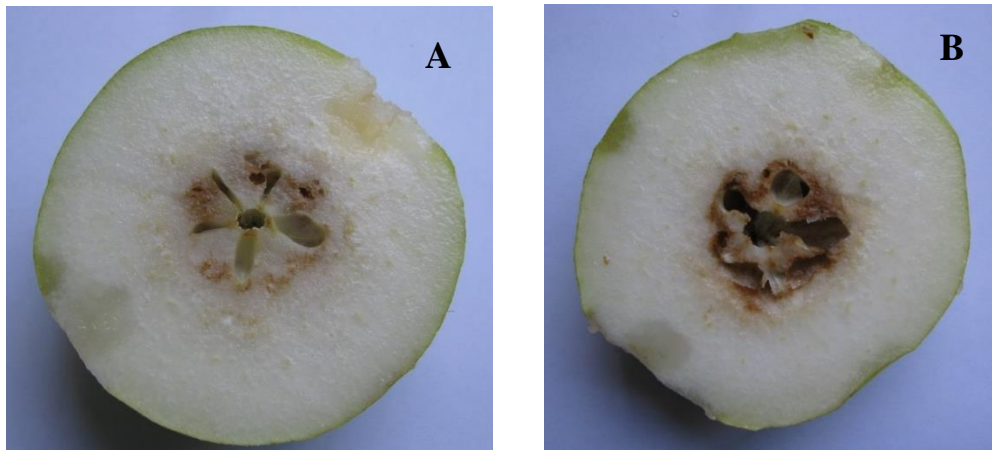
Los controles tuvieron una incidencia de 100% de escaldado después de ambos periodos de almacenamiento (Figura 5.3.2.A,B). A la primera salida (210 d), los tratamientos con poliaminas, UVC y el tratamiento térmico no se diferenciaron del control, mientras que la etoxiquina y la AC redujeron significativamente la incidencia de escaldado y la ACD y el 1-MCP inhibieron totalmente su desarrollo (Figura 5.3.2.A). Al prolongarse 2 meses el almacenamiento, se observó un incremento en la incidencia, así como en la severidad (Figura 5.3.2.B; Cuadro 5.3.4). Los tratamientos que ya tenían una alta incidencia en la evaluación anterior, incrementaron el porcentaje de frutos con grado 4. Los únicos tratamientos que se mantuvieron efectivos para controlar esta fisiopatía a los 270 días fueron el 1-MCP y la ACD (Figura 5.3.2.B).

Con respecto a la severidad, los frutos tratados con etoxiquina, AC, ACD y el 1-MCP fueron los que menor severidad de escaldado presentaron en la primera salida, y al

prolongarse el almacenamiento, a pesar de tener mayor incidencia, la severidad de estos tratamientos fue la menor (Cuadro 5.3.4).

Cavernas

Los únicos frutos que presentaron síntomas de cavernas fueron los conservados en ACD, presentando una incidencia de 21% y de 17% después de 210 y 270 días de almacenamiento, respectivamente.



Fotografía 5.3.1. Aspecto interno de peras “Beurré d’Anjou” con síntomas de cavernas leves (A) y severos (B) en frutos almacenados en ACD

5.4. Discusión

Madurez de los frutos

De todos los tratamientos evaluados, el 1-MCP fue el único efectivo en reducir significativamente la producción de etileno después de los dos periodos de almacenamiento (Figura 5.3.1). La inhibición del 1-MCP sobre la acción del etileno se debe a que este compuesto se une irreversiblemente a los receptores de etileno, retrasando así la producción autocatalítica de esta hormona (Blankeship y Dole, 2003). Este efecto ha sido previamente observado en peras de los cultivares “Passa-Crassana” (Lelievre et al., 1997), “Williams”, “Red Clapp’s”, “Beurre D’Anjou” y “Packhams Triumph” (Calvo y Candan, 2003; Calvo y Sozzi, 2004; Calvo, 2004b; Calvo y Candan, 2014). Todos los tratamientos, salvo UVC, redujeron la pérdida de firmeza durante 210 días a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ pero sólo los frutos tratados con 1-MCP y los almacenados en ACD presentaron valores de firmeza mayores que los controles al prolongarse la conservación. El 1-MCP fue el único tratamiento que redujo la pérdida de firmeza durante la vida en estante de los frutos. En este ensayo, además de mantener la firmeza de los frutos, el 1-MCP fue el tratamiento más efectivo en reducir la pérdida de acidez (Cuadros 5.3.2 y 5.3.3). Este efecto podría atribuirse a una reducción en la tasa respiratoria de los frutos, y por consiguiente a una menor utilización de los ácidos como sustrato de respiración, tal como fue observado en peras “Williams” (Trincherro et al., 2004).

Se considera que las peras están aptas para consumo cuando alcanzan valores de firmeza de 17,8 N (Ekman et al., 2004). Los frutos tratados con 1-MCP no se ablandaron lo suficiente durante la vida en estante, mientras que los almacenados en

ACD se ablandaron normalmente y alcanzaron la firmeza de consumo después de 7 días a 20 °C (Cuadros 5.3.2 y 5.3.3). Se observó una estrecha relación entre pérdida de firmeza del fruto y la tasa de producción de etileno de cada uno de los tratamientos ensayados (Figura 5.3.1), en coincidencia con la observación de que el ablandamiento de peras es altamente dependiente de la producción de etileno (Lelièvre et al., 1997).

Con respecto al color de la epidermis, se comprobó que el almacenamiento en ACD fue más efectivo que el tratamiento con 1-MCP para mantener el color verde durante el almacenamiento. Durante la vida en estante, ambos tratamientos fueron igualmente efectivos en mantener el color verde, con respecto al control (Cuadros 5.3.2 y 5.3.3). Estos resultados coinciden con lo observado en temporadas anteriores en esta variedad y en peras “Williams” (Candan y Calvo, 2009) y con lo observado en manzanas “Granny Smith” y “Cripps Pink” (Candan y Calvo, 2008). Este resultado es particularmente importante a nivel comercial dado que uno de los factores decisivos de aceptación de algunas variedades de peras por parte del consumidor es la presencia de coloración verde. Mattheis y Rudell (2011) observaron que el retraso en la pérdida de color verde, de acidez y de firmeza en peras “Beurré d’Anjou” almacenadas en ACD eran suficientes para extender la comercialización de la fruta a 8 meses. Los resultados obtenidos demuestran que el efecto de la ACD y del 1-MCP sobre la maduración no fue igualmente efectivo para los índices de madurez evaluados, ya que la ACD redujo la pérdida de color verde durante la vida en estante, pero no la firmeza.

Lurie et al. (1989), encontraron que la DPA prevenía la producción de etileno y reducía la actividad de enzimas oxidantes como la polifenoloxidasas, peroxidasa y lipoxigenasa. En este ensayo no se observó este efecto de la etoxiquina en la producción de etileno (Figura 5.3.1), sin embargo el tratamiento afectó algunos parámetros de maduración y los frutos se mantuvieron ligeramente más firmes que los controles durante 210 días a -0,5 °C y más verdes después de 270 días y 7 días a 20 °C (Cuadros 5.3.2 y 5.3.3).

En este estudio no se observaron diferencias en la producción de etileno entre frutos control y frutos tratados con poliaminas (Figura 5.3.1). Con este tratamiento en general la maduración no fue afectada, salvo, la retención de firmeza después de 210 días a -0,5 °C. Estos resultados coinciden con los de Fuentes (2013), que encontró que la aplicación de poliaminas en peras “Packhams Triumph” y en manzanas “Granny Smith” no afectó la firmeza, acidez y parámetros de color durante la maduración postcosecha. Sin embargo, se ha reportado que las poliaminas pueden ser efectivas para retrasar los cambios de color y mantener la firmeza de la fruta en otras especies como ciruelas (Serrano et al., 2003; Khan et al., 2008); aguacate y pera (Kakkar y Rai, 1993); manzana (Kramer et al., 1991) y durazno (Valero et al., 2002). Este efecto sería debido a la capacidad de las poliaminas de crear enlaces con las pectinas a nivel de la pared celular y de inhibir la actividad de enzimas responsables de su degradación (Kramer et al., 1991). Algunos tratamientos con poliaminas también demostraron ser efectivos en mantener la acidez en frutos de ciruela (Serrano et al., 2003) y de mango (Ullah Malik et al., 2005). Kakkar y Rai (1993) demostraron que la aplicación de poliaminas por infiltración en peras, redujo la síntesis de etileno mediante la inhibición de la enzima ACC sintasa (ACS), lo cual sugiere que una aplicación por infiltración podría ser más efectiva que la aplicación por inmersión realizada en este trabajo.

En general la radiación UVC también retrasa la maduración del fruto y afecta el ablandamiento de la fruta (Ait Barka et al., 2000), teniendo una actividad germicida y de inducción de resistencia a las enfermedades. Se ha mostrado también que la radiación UVC retrasa ciertos procesos asociados a la maduración y mejora la calidad de los frutos en conservación (Civello et al., 2006). La luz UVC retrasó la maduración en manzanas “Golden Delicious” (Lu et al., 1991) y en duraznos y redujo la pérdida de firmeza, asociándose a una menor actividad de las enzimas que degradan la pared celular (Stevens et al., 2004). Sin embargo, en este trabajo, este tratamiento no afectó de manera significativa la maduración de los frutos.

Los tratamientos térmicos tienen una serie de efectos sobre la fruta; mientras que la pérdida de acidez y de color puede aumentar, se mantiene la firmeza (Klein et al., 1990). La exposición a temperaturas superiores a 35°C inhiben la maduración en diferentes frutas (Paull, 1990). Los índices de madurez afectados por los tratamientos térmicos incluyen la producción de etileno, la tasa de respiración, el ablandamiento de la fruta, el metabolismo de los pigmentos, los cambios en las membranas, el sabor y la producción de compuestos volátiles (Lurie, 1998). En este ensayo el tratamiento térmico no afectó el contenido de sólidos solubles ni la acidez o el color. La firmeza fue mayor a la de los controles después de 210 días a -0,5 °C, pero no se mantuvo después de la vida en estante, ni al prolongarse la conservación.

Escaldado superficial

En este ensayo, el escaldado se manifestó durante el periodo de vida en estante y se observaron diferencias entre tratamientos. El porcentaje de frutos afectados y la severidad de los síntomas con escaldado se incrementaron en todos los tratamientos al extenderse el almacenamiento de 210 a 270 días. Los totalidad de los frutos control presentaron escaldado en ambas evaluaciones, lo que demostró la susceptibilidad de los frutos a esta fisiopatía (Figura 5.3.2).

Los compuestos antioxidantes como la etoxiquina inhiben la oxidación del α -farneseno (Huelin y Coggiola, 1970). Lurie et al., (1989) encontraron que el nivel de compuestos oxidados del α -farneseno era siete veces más bajo en la fruta tratada con este antioxidante que en la fruta sin tratar. En este trabajo el tratamiento redujo significativamente el escaldado después de 210 días de almacenamiento, pero al prolongarse el mismo no fue efectivo (Figura 5.3.2). Estudios previos demostraron que la etoxiquina puede controlar el escaldado superficial en peras “Packham’s Triumph” (Calvo y Salvador, 2000; Fuentes, 2013) y en “Beurré d’Anjou” (Chen et al., 1990) debido a su acción antioxidante y a la inhibición de la biosíntesis de trienos conjugados derivados de la oxidación del α -farneseno.

Se ha demostrado que la conservación en atmósferas con mínimos valores de O₂ reduce efectivamente el desarrollo de escaldado (Wang y Dilley, 1999). Al ser el escaldado producto de una reacción de oxidación, que requiere la presencia de oxígeno, cuanto más bajos son sus niveles, menor es su incidencia y concentraciones de 1% o menores generalmente la controlan (Ingle, 2001). Sin embargo, estos niveles de oxígeno pueden también ser dañinos para los frutos. El monitoreo de la fluorescencia de la clorofila permite determinar la tolerancia de la fruta a condiciones de almacenamiento con bajos de niveles de oxígeno. Una concentración de oxígeno de 0,2% por encima de la concentración a la que se detecta un aumento en la fluorescencia de la clorofila evita

el metabolismo anaeróbico (Prange et al, 2003) y promueve la retención de calidad y prevención del escaldado (Zanella, 2003). Mellenthin et al. (1980) reportaron que no se desarrolló escaldado en fruta almacenada 8 meses con niveles de O₂ de 0,5 o 1%, y sólo un 4% de incidencia en fruta almacenada con 1,5% de O₂. El mayor desarrollo de escaldado en atmósferas con mayores concentraciones de O₂ confirma el requisito de tener muy bajos niveles de O₂ para controlar el escaldado en este cultivar. En este ensayo la AC redujo significativamente el escaldado después de 210 días, pero no fue efectiva después de 270 días de conservación (Figura 5.3.2). Sin embargo, en ACD, se incrementó significativamente la efectividad del control de escaldado, siendo comparable al obtenido con 1-MCP. Estos resultados son consistentes con los observados en temporadas anteriores en peras “Beurré d’Anjou” almacenadas durante 200 días en los cuales se observó mayor incidencia de escaldado en frutos conservados en frío convencional y AC y menor incidencia en ACD (Candan y Calvo, 2009). La efectividad de la técnica ACD también pudo comprobarse en manzanas “Pink Lady” y “Granny Smith” (Candan y Calvo, 2008). Se debe considerar que si bien la ACD permite un mejor control de escaldado, la misma es una tecnología costosa que requiere una inversión aún mayor a la necesaria para utilizar AC convencional (Zanella, 2003).

Se ha observado que la aplicación exógena de poliaminas inhibió la producción de etileno en frutos de distintas especies (Tabor y Tabor, 1984; Bregoli et al., 2002; Perez-Vicente et al., 2002; Serrano et al., 2003). Sin embargo, en este ensayo no se observó un efecto significativo de la putrescina sobre la producción de etileno (Figura 5.3.1), ni tampoco sobre el desarrollo de escaldado. Los frutos presentaron un 95% de incidencia después de 210 días y un 100% después de 270 días (Figura 5.3.2). Fuentes (2013) tampoco encontró un efecto significativo de las poliaminas sobre el desarrollo de escaldado en peras “Packham’s Triumph”, que se relacionó con su ineficiencia en reducir la producción de etileno. Si bien es el único antecedente del efecto de poliaminas sobre el desarrollo de escaldado en peras, la efectividad de las mismas en reducir los daños por frío ha sido demostrada en otras especies, como manzanas (Kramer et al., 1991). Se debería evaluar la efectividad de las poliaminas en tiempos de almacenamiento más cortos, cuando la producción de etileno de las peras es baja.

Hay numerosos antecedentes de la efectividad del control de escaldado mediante tratamientos con 1-MCP en manzanas (Fan et al., 1999; Watkins et al., 2000; Watkins y Miller, 2005) y en peras (Chiriboga et al., 2014) y su eficacia se asoció a la reducción de la síntesis de etileno, α -farnesenos y trienos conjugados (Chen y Spotts, 2005). Asimismo, se ha comprobado que el tratamiento con 1-MCP reduce la actividad de las enzimas clave en la ruta de biosíntesis del α -farneseno, como la HMG CoA reductasa (HMGR), y la α -farneseno sintetasa (AFS) (Gapper et al., 2006), controlando el escaldado. También se ha comprobado que el 1-MCP estimula indirectamente el potencial antioxidante, lo cual reduce la susceptibilidad de los frutos al daño por frío (Larrigaudière et al., 2004; Vilaplana et al., 2006). En este estudio, el 1-MCP inhibió el desarrollo de escaldado después de 210 días y redujo significativamente su incidencia al prolongarse el almacenamiento. Este tratamiento fue muy eficaz en la reducción de la producción de etileno de las peras “Beurré d’Anjou” (Figura 5.3.2), como ya se ha informado en otros cultivares de pera (Calvo, 2004b; Ekman et al., 2004; Chen y Spotts, 2005), lo que confirma que el etileno es el principal inductor del desarrollo de esta fisiopatía. Respecto al ablandamiento del fruto, en este ensayo la fruta tratada con 300 ppb no se ablandó lo suficiente durante la vida en estante, incluso después de 270 días de almacenamiento, manteniendo valores de firmeza superiores a 35 N (Cuadro 5.3.3).

Esto mismo ha sido observado por otros autores (Bai et al., 2009), y constituye el mayor limitante para adoptar el 1-MCP a nivel comercial como método de control de escaldado en peras. Por lo tanto, sigue siendo un desafío determinar condiciones de tratamiento con 1-MCP adecuadas que permitan controlar el escaldado superficial y a la vez alcanzar el grado de maduración y ablandamiento apropiados para el consumo de la fruta.

La incidencia de la luz antes de la cosecha es otro factor que altera la incidencia de escaldado, observándose menor incidencia en las porciones de manzanas expuestas al sol (Albrigo y Childers, 1970). Este fenómeno se ha relacionado con mayores niveles de compuestos fenólicos en el sector expuesto de la piel, aunque la identidad de estos compuestos no se ha determinado. Sin embargo, tanto la luz solar (Awad et al., 2000) como la luz artificial (Hagen et al., 2007) provocan la síntesis de compuestos fenilpropanoides y de pigmentos isoprenoides, así como alteran los niveles de metabolitos de muchas otras vías (Rudell et al., 2008). Rudell y Mattheis (2009) evaluaron la aplicación de luz UVC en manzanas “Granny Smith” y observaron que no se desarrolló escaldado en el sector del fruto expuesto a la radiación. Estos autores determinaron que la exposición a la luz UV incrementó los niveles de una serie de fenilpropanoides. El contenido de α -farneseno se redujo a medida que se incrementó la duración del tratamiento y los contenidos de α -tocoferol. Esto indicaría que la reducción de escaldado podría estar asociada con más de una ruta metabólica. En este trabajo el tratamiento con UVC previo a la conservación no redujo la incidencia de escaldado (Figura 5.3.2). Esta falta de efectividad podría deberse a una diferencia en la forma de realizar el tratamiento. En el ensayo realizado por Rudell y Mattheis (2009) los frutos fueron expuestos a una distancia de 15 cm por 4; 18,5; 25 y 48,5 horas utilizando una sola lámpara de 40W, sin precisar la dosis aplicada. En este ensayo se utilizaron diez lámparas, a una distancia de 15 cm y los frutos se irradiaron durante 2 minutos, logrando una dosis de 2,7 KJ/m². La dosis se seleccionó de acuerdo con las utilizadas en trabajos anteriores. Gonzales Aguilar et al., (2004) utilizaron una dosis de 1,5 a 4,9 KJ/m² en duraznos, y 0,5 a 4 KJ/m² en frutillas, mientras que Hemmaty et al., (2007) utilizaron una dosis de 1,4 KJ/m² en manzanas. Fuentes (2013) observó daños por quemado en peras “Packham’s Triumph” tratadas con dosis de UVC superiores a 3 KJ/m². Por otro lado, la duración del tratamiento se realizó en función de una posible aplicación en la línea de empaque, por lo que duraciones mayores serían impracticables.

Estudios anteriores han demostrado que diferentes tratamientos físicos previos al almacenamiento podrían ser una alternativa al uso de compuestos químicos. Lurie y Klein (1990) aplicaron baños con agua caliente a diversas temperaturas, y demostraron que 50 °C durante 1 minuto fue el mejor tratamiento en manzanas “Granny Smith”. La inhibición del escaldado causada por el tratamiento térmico se ha asociado con un retraso en la producción de etileno, la reducción en la acumulación de α -farneseno y CTols, y menor actividad de PPO (Lurie et al., 1990). La menor acumulación de CTols podría ser debido a la menor disponibilidad de sustrato (α -farneseno) y/o a la inhibición de su oxidación (Lurie et al., 1990). Todos los trabajos recientes sobre los tratamientos térmicos se han realizado en manzanas “Granny Smith” y deberían evaluarse en otras especies y cultivares (Lurie y Watkins, 2012). En este ensayo, los frutos se sumergieron en agua a 50 °C \pm 1 °C, durante 1 minuto, pero no se observó un efecto consistente sobre la producción de etileno, ni sobre la maduración de los frutos. La incidencia de escaldado fue similar a la de los controles, e incluso se observó una mayor severidad después de 210 días de conservación (Figura 5.3.2). Hay diversos factores que podrían

influir en la efectividad de estos tratamientos, como el cultivar (Hardenburg, 1967) y la madurez a cosecha (Jemric et al., 2006). En futuros ensayos habría que evaluar distintas combinaciones temperatura-tiempo en peras de este cultivar. También hay que considerar los requerimientos de energía que estos tratamientos implican. Los tratamientos de agua caliente se utilizan comercialmente para el control de plagas cuarentenarias de insectos, donde el incentivo económico es evidente y el costo del tratamiento se justifica.

Desarrollo de Cavernas

El desarrollo de cavernas en peras es uno de los síntomas asociados a una composición inapropiada de la atmósfera de conservación, y se atribuye principalmente a niveles elevados de CO₂ (Benítez y Calvo, 2002). El desarrollo de cavernas solo se observó en los frutos almacenados en ACD. En ensayos realizados en temporadas anteriores también se observaron cavernas en peras “Beurré d’Anjou” conservadas en ACD, y su incidencia fue aún mayor (Candan y Calvo, 2009). Esto sugiere que el cultivar “Beurre D’Anjou” es altamente sensible a la toxicidad por CO₂, tal como fue observado en algunas variedades de manzana, lo que constituye una limitante para utilizar esta estrategia como alternativa al control de escaldado superficial a nivel comercial. De este modo, la determinación de las condiciones de almacenamiento y de dosificación de O₂ para la conservación de peras “Beurré d’Anjou” en ACD también tendrá que considerar el desarrollo de cavernas para que sea factible su aplicación comercial.

5.5. Conclusiones

De los tratamientos evaluados, los únicos que inhibieron el desarrollo de escaldado en una conservación de mediano plazo (210 d) fueron el 1-MCP y la ACD. Al prolongarse la conservación a 270 d, estos tratamientos redujeron su desarrollo pero no lo inhibieron completamente. Los demás tratamientos evaluados no redujeron la incidencia de escaldado con respecto al control.

El tratamiento con 1-MCP, a pesar de controlar efectivamente el escaldado, impidió el normal ablandamiento de los frutos durante su vida comercial, lo cual podría ser una limitante para el uso de esta tecnología en esta variedad. Con respecto a la conservación en ACD, se debe tener en cuenta que la combinación de bajo O₂ y alto CO₂ puede causar daños en los frutos, que se manifiestan como cavernas internas. Ambos tratamientos se están utilizando a nivel comercial en la actualidad en manzanas. Los resultados detallados en este capítulo muestran que la aplicación comercial de estos tratamientos en pera “Beurré d’Anjou” aún no es posible y que es necesario optimizar los protocolos de aplicación para evitar o minimizar el desarrollo de cavernas internas.

Respecto a los otros tratamientos físicos, como el agua caliente o el UV-C no es posible descartar que se puedan seleccionar otras condiciones de tratamiento (temperatura, tiempo, medio de calefacción, dosis total de irradiación, potencia de irradiación, etc.) que permitan controlar el escaldado y la maduración después de un periodo de conservación prolongada. Esto permitiría contar con otras alternativas para su uso comercial, las cuales podrían ser incluso incorporadas a una estrategia más integral de conservación.

En conjunto, se concluye que aún no se dispone de una estrategia que permita el control de escaldado superficial, sin afectar otros parámetros de calidad en peras “Beurré d’Anjou”.

CAPITULO 6.

Optimización de la tecnología de 1-MCP en peras “Beurré D’ Anjou”

6.1. Introducción

A diferencia de las manzanas, en las que la inhibición del ablandamiento es deseable, en el caso de peras es necesario que los frutos pierdan firmeza para su consumo. Las peras son extremadamente sensibles a la exposición al 1-metilciclopropeno (1-MCP) y el tratamiento con la dosis comercial ($0,3 \mu\text{L L}^{-1}$) en ciertas variedades tiene efectos residuales que no se disipan fácilmente durante la comercialización (Blankenship y Dole, 2003). La concentración que proporciona un control del escaldado superficial eficaz, puede inhibir la maduración normal de la fruta posterior al almacenamiento (Chen y Spotts, 2005). Por lo tanto, todavía es un desafío encontrar condiciones de tratamiento efectivas para controlar el escaldado superficial en peras y que a su vez permitan el progreso de la maduración de la fruta para su comercialización (Mitcham et al, 2001; Villalobos-Acuña et al, 2011). La recuperación de la sensibilidad al etileno depende principalmente de la concentración de 1-MCP aplicada, la duración del almacenamiento y el estado de madurez de la fruta en el momento del tratamiento (Calvo, 2004).

Con el fin de re-iniciar el proceso de maduración de los frutos tratados con 1-MCP, varias estrategias han sido investigadas. La aplicación de etileno exógeno después del almacenamiento en frío no revirtió la inhibición causada por 1-MCP en peras (Mitcham et al., 2001; Calvo, 2004). Sin embargo, la aplicación simultánea de 1-MCP con etileno en proporciones de 1:0,5 a 1:2 facilitó la posterior restauración de la maduración, probablemente por la competencia entre ambos compuestos para unirse al receptor de etileno (Manriquez y Defilippi, 2011; Cucci y Regiroli, 2011; Chiriboga et al., 2011). Por otro lado, Bai et al. (2009) y Chiriboga et al. (2010) reportaron que el calentamiento de los frutos en el rango de 10 a 20°C durante o después del almacenamiento refrigerado puede restaurar la capacidad de ablandamiento de varios cultivares de pera tratadas con 1-MCP, siendo el efecto atribuido a la estimulación de la síntesis de nuevos receptores (Jiang et al., 1999).

En el capítulo anterior se determinó que, de las alternativas evaluadas para control de escaldado superficial en peras “Beurré d’Anjou”, las únicas efectivas fueron el 1-MCP y la ACD. Sin embargo, el tratamiento con 1-MCP impidió el normal ablandamiento de los frutos durante su vida comercial, lo cual podría ser una limitante para el uso de esta tecnología en esta variedad. Debido a ello, la investigación detallada en este capítulo se llevó a cabo para evaluar diferentes estrategias para modular los efectos de 1-MCP en peras “Beurré d’Anjou” a fin de lograr un control efectivo de escaldado superficial y una adecuada maduración después del almacenamiento.

6.2. Materiales y métodos

Material vegetal y condiciones de almacenamiento

Las peras “Beurré d’Anjou” (*Pyrus communis* L.) se cosecharon el día 31 de enero, en estado de madurez óptimo, en la chacra comercial mencionada en el Capítulo 2. Después de la cosecha, los frutos fueron trasladados al laboratorio de la Estación Experimental INTA Alto Valle donde se seleccionaron frutos de tamaño uniforme y sin defectos. Se realizaron 3 repeticiones de 20 frutos de cada tratamiento. Los tratamientos realizados fueron los siguientes:

- *Control*: Los frutos se almacenaron en la cámara de FC, sin ningún tratamiento

- *1-MCP*: Inmediatamente después de cosecha, los frutos se colocaron dentro de un contenedor de 0,86 m³ de acero inoxidable, donde se realizó un tratamiento con 0,3 µL L⁻¹ de 1-MCP, pesando las cantidades necesarias de SmartFresh® (0,14% p/p ingrediente activo, Rohm & Haas) en un frasco al que se agregó agua (a 45 °C) para liberar el 1-MCP. Los contenedores se cerraron herméticamente y se pusieron en marcha los ventiladores dentro de los mismos para asegurar una adecuada distribución del gas dentro del contenedor. Después de 24 h de tratamiento a 0°C, los frutos se almacenaron en canastos plásticos de 60 frutos cada uno a -0,5°C.
- *600 Et + 600 MCP*: Se aplicó una mezcla de 0,6 µL L⁻¹ de 1-MCP + 0,6 µL L⁻¹ de etileno en un contenedor, como se describió anteriormente. Para la aplicación de etileno se empleó una mezcla gaseosa enriquecida (5% de C₂H₄ en el aire, AGA Pac MDF, Código 17000) inyectando la cantidad necesaria para obtener 0,6 µL L⁻¹ de etileno en una cámara sellada. El etileno se inyectó con una jeringa inmediatamente después de haber iniciado la liberación de 1-MCP.
- *300 MCP demora*: El tratamiento con 0,3 µL L⁻¹ de 1-MCP se realizó como se describió anteriormente, pero con una demora de 30 días con respecto a la cosecha. Durante el periodo de demora los frutos se mantuvieron a 0°C.
- *800 MCP post almacenaje*: En este caso el tratamiento con 0,8 µL L⁻¹ de 1-MCP se realizó a los 150 días de almacenamiento. Se dejaron las bolsas abiertas y sin tapa y se trataron directamente en la cámara con 0,8 µL L⁻¹ de 1-MCP (a 0°C) durante 24 h. Al día siguiente los frutos se volvieron a colocar en la cámara de conservación.
- *Et después Conservación*: Después de 150 días de almacenamiento, los frutos tratados en cosecha con 0,3 µL L⁻¹ de 1-MCP como se describió anteriormente, se sacaron de la cámara de almacenamiento y se colocaron a 20°C durante 1 día, con las bolsas abiertas. Al día siguiente, cuando los frutos tenían una temperatura estable de 20°C, los frutos se trataron con 1 µL L⁻¹ de una mezcla gaseosa de composición conocida de etileno (Etileno 5% y Nitrógeno, de nombre comercial AGA Pac MDF) durante 24 horas y se volvieron a colocar en la cámara de conservación.
- *3 sem a 18°C*: Aplicación de 0,3 µL L⁻¹ de 1-MCP en cosecha, almacenamiento en cámara a -0,5°C, y previo a la evaluación los frutos se dejaron 3 semanas a 17-21°C (acondicionado) + 2 semanas a -0,5°C. Se determinó la temperatura y la producción de etileno durante las 3 semanas de acondicionado.

Una vez finalizados los tratamientos, la fruta se embolsó en medias cajas con dos bandejas de cartón (20 frutas cada una) y bolsa de polietileno de baja densidad de 25 µm de espesor, sin perforar. Los frutos de todos los tratamientos se almacenaron durante 195 días a -0,5°C y 95% HR y se evaluaron al finalizar el almacenamiento y después de 7 días de vida en estante a 20 °C. Las determinaciones realizadas fueron las siguientes:

Determinaciones de madurez

Se determinó antes de los tratamientos (considerada como madurez inicial) como se detalló en el Capítulo 2. Después de 195 días de almacenamiento a -0,5°C y 7 días a 20°C se determinaron la firmeza de la pulpa y el color de la epidermis a 5 repeticiones de 10 frutos cada una.

Producción de etileno

La producción de etileno se determinó sobre 5 repeticiones de 1 fruto después de 195 días a $-0,5^{\circ}\text{C}$ y durante 21 días de vida en estante a 20°C , tal como fue descrito en el Capítulo 2.

Desarrollo de escaldado superficial

La incidencia, la severidad y el índice de escaldado, se determinaron sobre 5 repeticiones de 10 frutos cada una después de 195 días a $-0,5^{\circ}\text{C}$ y 7 días a 20°C . Se determinó como fue descrito en el Capítulo 2.

Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) utilizando INFOSTAT Profesional de software / versión 2006p.1. La separación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey con un nivel de significación del 0,05 (valores de p).

6.3. Resultados

Índices de madurez a la cosecha

Cuadro 6.3.1. Índices de madurez de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 31 de enero. Los valores representan la media \pm DE.

Índice	Valor \pm DE
Firmeza (N)	$58,7 \pm 5,1$
SST (%)	$11,0 \pm 0,2$
AT (g L^{-1})	$3,7 \pm 0,1$
Color (hue)	$116,7 \pm 2,4$
Degradación Almidón (%)	$16,0 \pm 0,7$

Con respecto a los índices de referencia establecidos por Benítez (2001), la fruta utilizada en este ensayo tenía una madurez óptima, pero con una firmeza de 9,73 N menor que la recomendada para el inicio de la cosecha.

Parámetros de madurez después del almacenamiento

De los índices de madurez evaluados, la firmeza fue donde más se evidenciaron las diferencias entre tratamientos. La capacidad de maduración de peras “Beurré D’ Anjou” se define cuando alcanza una firmeza de 23 N y una textura mantecosa (Xie et al., 2016). Los controles perdieron 7,7 N de firmeza durante 195 días de almacenamiento, respecto de la firmeza inicial. Al cabo de 7 días a 20°C , tenían una firmeza menor a la recomendada para consumo (Figura 6.3.1A). Asimismo, se observó una pérdida de color verde de los frutos control de 3,3 (Hue) con respecto a los valores iniciales y de 4,7 durante la vida en estante (Figura 6.3.1B). Como era previsible, el tratamiento 1-MCP en cosecha resultó efectivo para reducir la pérdida de firmeza y de color en los frutos durante el almacenamiento pero también durante la posterior vida en estante. Los frutos de tratamiento no alcanzaron la madurez de consumo al después de 7 días a 20°C , ya que mantuvieron valores de firmeza superiores a los 50 N (Figura 6.3.1).

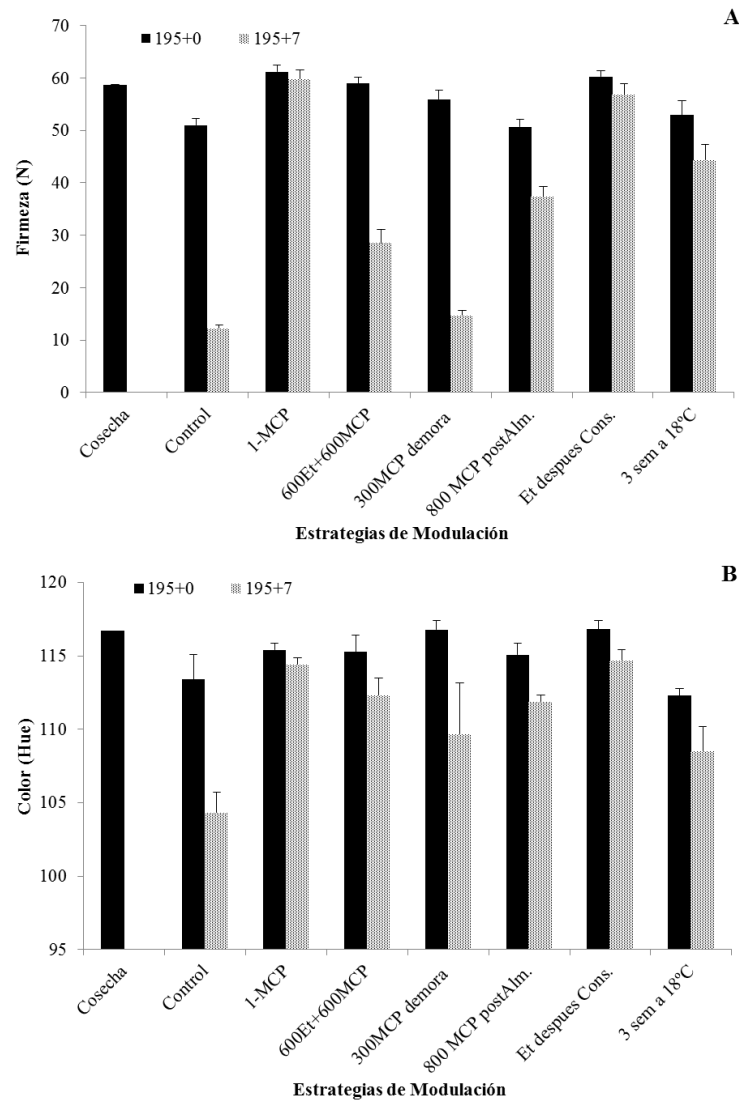


Figura 6.3.1. Firmeza (A) y color de la epidermis (B) de peras “Beurré d’Anjou” tratadas con distintas estrategias para modular el efecto del 1-MCP y evaluadas después de 195 días de almacenamiento a $-0,5^{\circ}\text{C}$ y 7 días a 20°C

La aplicación de $1 \mu\text{L L}^{-1}$ de etileno exógeno después del almacenaje no fue efectiva para inducir el ablandamiento o la pérdida de color verde de los frutos después de 195 d de almacenamiento, y durante la vida en estante (Figura 6.3.1). Sin embargo, cuando se realizó la aplicación simultánea de $0,6 \mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP con $0,6 \mu\text{L L}^{-1}$ de etileno, se pudo modular el efecto del 1-MCP. Después de 195 días de almacenamiento + 7 días a 20°C , los frutos de este tratamiento se ablandaron alcanzando valores de firmeza intermedios entre los controles y los tratados con 1-MCP y perdieron color verde (Figura 6.3.1).

Los frutos sometidos a las otras estrategias de aplicación de 1-MCP maduraron en menor proporción que los controles durante la vida en estante. Tal como se observó en la producción de etileno (Figura 6.3.2), la demora de 30 días en la aplicación de $0,3 \mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP permitió reducir su efecto, y los frutos perdieron firmeza y color durante 195 d de almacenamiento, pero a una tasa menor que los controles. Durante la vida en estante, estos frutos tuvieron una madurez similar a los controles y un color verde intermedio entre el control y 1-MCP (Figura 6.3.1). Cuando se utilizó una mayor

concentración de 1-MCP después del almacenamiento (800 MCP post almacenaje), los frutos se ablandaron durante la vida en estante, pero presentaron una firmeza superior a los controles y un mayor color verde (Figura 6.3.1). El tratamiento de acondicionamiento térmico (3 sem a 18°C) permitió que los frutos inicien el proceso de ablandamiento y de pérdida de color verde durante la vida en estante. La pérdida de firmeza después de 7 días a 20°C fue mayor a la observada en los frutos tratados con 1-MCP, indicando que el proceso de maduración había comenzado (Figura 6.3.1A). Así mismo, el acondicionamiento estimuló la pérdida de color verde, alcanzando valores de Hue más bajos (mas amarillo) que los tratados con 1-MCP (Figura 6.3.1B).

Producción de etileno después del almacenamiento

Después de 195 días de almacenamiento, los frutos control ya estaban produciendo etileno al finalizar el almacenamiento ($5,64 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Esta producción se incrementó hasta alcanzar el pico de $23 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ después de 6 días a 20°C (Figura 6.3.2). Los frutos tratados con $0,3 \mu\text{L L}^{-1}$ 1-MCP en cosecha no presentaron producción de etileno durante los 21 días de evaluación. La aplicación de etileno después de la conservación y el acondicionamiento no fueron efectivos, ya que la producción no se incrementó durante 21 días de vida en estante de los frutos. Al contrario, una aplicación simultánea al 1-MCP (600ET+600MCP) permitió un leve incremento de la producción de etileno al final de las evaluaciones. Los únicos tratamientos que permitieron revertir de forma significativa el efecto del 1-MCP fueron los tratamientos $0,3 \mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP con una demora de 30 días y el tratamiento con 800 MCP post almacenaje. En los dos casos, los frutos produjeron menos etileno que los controles y el pico se produjo con retraso, a los 10 días y 16 días respectivamente (Figura 6.3.2).

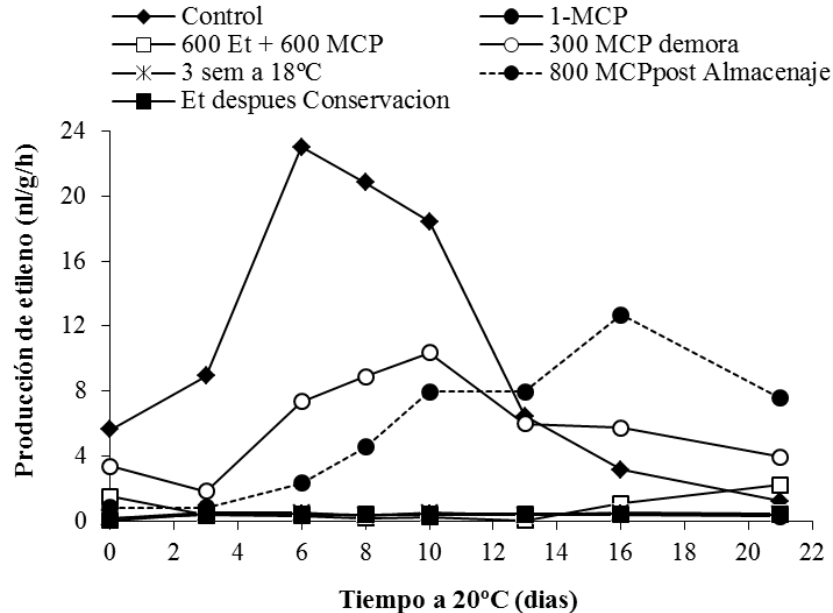


Figura 6.3.2. Producción de etileno ($\text{nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) de peras “Beurré d’Anjou” tratadas con distintas estrategias para modular el efecto de 1-MCP y evaluadas durante la vida en estante (20°C) después de 195 días de almacenamiento a $-0,5^\circ\text{C}$. Los valores representan la media de 5 repeticiones (1 fruto por repetición) y las líneas verticales indican el LSD de las medias ($p < 0,05$).

Escaldado Superficial

En los frutos control, la incidencia de escaldado superficial fue de 87%, mientras que el tratamiento con $0,3 \mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP inhibió totalmente el desarrollo de esta fisiopatía. En cuanto al desarrollo de escaldado en los frutos sometidos a las diferentes estrategias de modulación, en general la incidencia se relacionó con la producción de etileno y la capacidad de maduración de los frutos. Los tratamientos que inhibieron la producción de etileno ($600\text{Et}+600\text{MCP}$, 3 sem a 18°C , Et después conservación), inhibieron también el desarrollo del escaldado (Figuras 6.3.3 y 6.3.4).

Cuando la aplicación de 1-MCP se realizó con 30 días de demora, la efectividad en el control de escaldado se redujo, ya que los frutos presentaron un 38% de incidencia. Cuando la aplicación de 1-MCP se realizó después del almacenamiento, aun utilizando una alta dosis ($0,8 \mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP) no hubo un control de escaldado y los frutos tuvieron la misma incidencia que los controles sin tratar (Figura 6.3.4). Esto puede corroborarse también mediante el índice de severidad de escaldado (Cuadro 6.3.2).

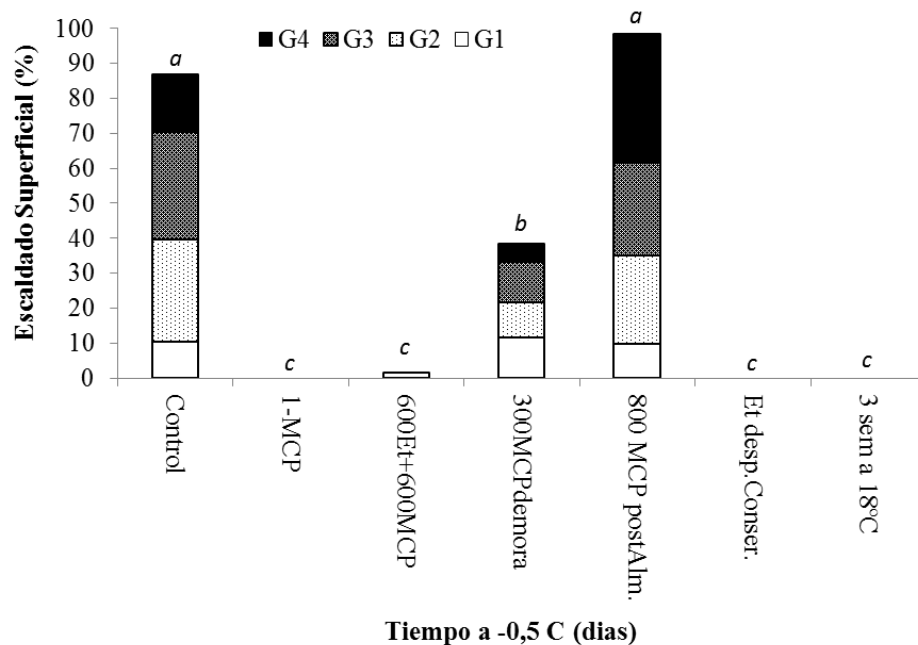


Figura 6.3.3. Incidencia y severidad de escaldado superficial en peras “Beurré d’Anjou” tratadas con distintas estrategias para modular el efecto de 1-MCP y evaluadas luego de 195 días de almacenamiento a $-0,5^\circ\text{C}$ y 7 días a 20°C . Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey $\alpha=0,05$

Cuadro 6.3.2. Índice de escaldado superficial (IES) en peras “Beurré d’Anjou” tratadas con distintas estrategias para modular el efecto de 1-MCP y evaluadas luego de 195 días de almacenamiento a $-0,5^{\circ}\text{C}$ y 7 días a 20°C . Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey $\alpha=0,05$.

Tratamiento	IES
Control	2,3 a
1-MCP	0,0 c
600Et+600MCP	0,1 c
300 MCP demora	0,9 b
800 MCP postAlmacenaje	2,9 a
Et después Conservación	0,0 c
3 sem a 18°C	0,0 c
<i>Valor de p</i>	$<0,0001$

6.4. Discusión

Modulación de efectos del 1-MCP

El uso comercial de 1-MCP en peras europeas es potencialmente problemático debido a que el efecto residual no se disipa fácilmente durante la vida comercial (Argenta et al., 2003; Ekman et al., 2004; Bai et al., 2006; Chen y Spotts, 2005; Gapper et al., 2006), lo que provoca problemas de maduración y ablandamiento del fruto (Argenta et al., 2003; Calvo, 2004; Ekman et al., 2004; Bai et al., 2006; Villalobos-Acuña et al., 2011a, b).

Chen y Spotts (2005) reportaron que las peras “Beurré d’Anjou” tratadas con 1-MCP con las dosis que controlan el escaldado (desde $0,05$ hasta $0,3 \mu\text{L L}^{-1}$) no maduran normalmente a 20 o 25°C durante la vida en estante. Fruta tratada con dosis más bajas ($0,01$ hasta $0,02 \mu\text{L L}^{-1}$) maduraron, pero desarrollaron altas incidencias de escaldado. La capacidad de maduración de peras “Beurré d’Anjou” queda completamente bloqueada por 1-MCP a concentraciones superiores a $0,1 \mu\text{L L}^{-1}$ (Bai et al, 2009; Chen y Spotts, 2005; Gapper et al, 2006). Sin embargo, Argenta et al. (2003) reportaron que las peras “Beurré d’Anjou” tratadas con 1-MCP con $0,1$ a $1 \mu\text{L L}^{-1}$ podrían madurar después de 6-8 meses de almacenamiento en frío.

En “Beurré d’Anjou”, cuando el 1-MCP causa un bloqueo de la maduración, inhibe la pérdida de firmeza, pero no se produce un bloqueo similar en el cambio de color. La pérdida de color verde de los frutos tratados siempre se ve ralentizada pero no se detiene por completo, lo que indica un efecto diferencial del 1-MCP sobre estos dos parámetros de la maduración (Chiriboga et al., 2011). Este efecto diferencial sobre la textura y el color de la piel ha sido descrito por varios autores (Ekman et al., 2004, Trincherro et al., 2004).

Para recuperar la capacidad de maduración en peras europeas tratadas con 1-MCP, se han investigado varias estrategias con éxito variable, tal como la aplicación de etileno post almacenaje (Chiriboga et al., 2011), el almacenamiento de las peras tratadas a mayores temperaturas (Xie et al., 2014) y el acondicionamiento con temperatura (Bai et al, 2009).

Una forma de inducir la síntesis de nuevos receptores es exponer los frutos a etileno exógeno, que es una práctica comercial estándar para acondicionar las peras europeas y mejorar su capacidad de maduración. Xie et al. (2016) encontraron que la aplicación de $1 \mu\text{L L}^{-1}$ de etileno post almacenaje permitió que peras “Red Anjou” previamente tratadas con 1-MCP recuperasen la capacidad de maduración tras 6-7 meses de almacenamiento. Sin embargo, Chen (2002) no obtuvo respuesta cuando aplicó etileno a peras “Bartlett”, y Mitcham et al. (2001) afirman que los efectos del 1-MCP en peras Europeas no se revierten al exponer la fruta tratada a etileno. Así mismo, en trabajos previos se encontró que la exposición de los frutos a etileno exógeno no revirtió los efectos del tratamiento con 1-MCP en peras “Packham’s Triumph” (Calvo, 2004). Bai et al., (2006) encontraron que la reversión de los efectos del 1-MCP en peras fue dependiente del cultivar, por ello en este ensayo se evaluó esta estrategia en el cultivar “Beurré d’Anjou”. Sin embargo, en este estudio la aplicación de $1 \mu\text{L L}^{-1}$ de etileno exógeno después del almacenaje no fue efectiva para inducir la producción de etileno, el ablandamiento y la pérdida de color verde de los frutos después de 195 d de almacenamiento.

En este estudio la estrategia competitiva de aplicación de 1-MCP con etileno demostró ser eficaz para restaurar la capacidad de maduración de los frutos después del almacenamiento. A pesar de que la producción de etileno se incrementó poco ($> 1 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) después de 16 días a $20 \text{ }^\circ\text{C}$, los frutos lograron ablandarse al cabo de 7 días, alcanzando valores de firmeza de 28 N (Figuras 6.3.2 y 6.3.3). Estudios previos determinaron que la eficacia del tratamiento depende fuertemente de la concentración de 1-MCP utilizada y de la relación entre la concentración de 1-MCP y de etileno. Calvo y Candan (2015) encontraron, por ejemplo, que la aplicación simultánea de 1-MCP y etileno en relación 1:1 o 1:0,5 es efectiva pero depende de la duración del almacenamiento. Cuando se aplicaron $0,3 \mu\text{L L}^{-1}$ de etileno a fruta tratada con $0,3 \mu\text{L L}^{-1}$ 1-MCP, la restauración de la maduración fue completa, pero con $0,15 \mu\text{L L}^{-1}$ de etileno, la restauración fue parcial y la fruta mostró una tasa de maduración intermedia entre el control y el 1-MCP. Esta estrategia fue evaluada por otros investigadores como Chiriboga et al., (2011), quienes observaron que la aplicación simultánea de $0,6 \mu\text{L L}^{-1}$ 1-MCP y $0,3 \mu\text{L L}^{-1}$ de etileno (1: 0,5) fue el tratamiento más efectivo en las peras “Conference”. Así mismo, Newland et al (2015) encontraron que la aplicación simultánea de 1-MCP y etileno en distintas combinaciones fue eficaz para restaurar la capacidad de maduración en peras del mismo cultivar. A su vez, Manriquez y Defilippi (2011) observaron que cuando el 1-MCP se aplica en combinación con etileno en relación 1:1, se pudo observar un efecto en “Packhams Triumph”, siendo esta respuesta intermedia entre la de los frutos tratados con 1-MCP inmediatamente después de la cosecha y el control sin tratar. En peras “Bartlett”, la adición de $60 \mu\text{L L}^{-1}$ de etileno exógeno conjuntamente con el 1-MCP (10:1) aplicado después de la cosecha disminuye el efecto del tratamiento en fruta temprana, que madura más rápido que la fruta tratada únicamente con 1-MCP (Macnish et al., 2012). Estos resultados ponen de relieve el carácter competitivo del 1-MCP y del etileno al ser aplicados simultáneamente. Los dos tratamientos compiten por los sitios de unión de los receptores, de tal manera que los receptores ocupados por el etileno suministrado exógenamente podrían ayudar a la posterior producción natural de etileno por parte del fruto y a su vez a la generación de nuevos receptores.

Chiriboga et al., (2013) determinaron que la fruta tratada con 1-MCP mantiene niveles de expresión de los receptores PcETR1 más altos y una sobreexpresión de

PcETR5. Además, la regulación negativa observada para PcERS1 y PcCTR1 durante la vida en estante fue menor en 1-MCP que en la fruta sin tratar. Estos cambios a nivel de receptor y de señalización condujeron a una represión eficaz de la vía de señalización del etileno y dieron lugar, a su vez, a la regulación negativa de la expresión de ACS y ACO. En consecuencia, se inhibe la actividad enzimática de la ACS y ACO y se retrasa la producción de etileno durante la vida en estante hasta 20 días. Según estos autores, el tratamiento con etileno exógeno en combinación con la aplicación de 1-MCP reduce los efectos inhibitorios del tratamiento con 1-MCP, principalmente debido a la acción que tuvo el etileno sobre los niveles de expresión de los genes PcETR1 (receptor de etileno) y PcCTR1 (señalización). Tales cambios a nivel de percepción y señalización dieron lugar a una considerable regulación de ACS (especialmente PcACS2) y los genes PcACO1 después de 15 días y también se asociaron con cambios mínimos en la actividad de ACS pero con un importante incremento de la actividad de ACO. La fruta tratada con 1-MCP + etileno recuperó la capacidad para producir etileno después del almacenamiento, pero con un periodo de retraso de 5 días.

Otra estrategia prometedora para restaurar la maduración de las peras tratadas con 1-MCP es exponer a la fruta a temperaturas en el rango de 15-20°C durante un cierto periodo. La exposición a estas temperaturas podría favorecer la liberación de 1-MCP de los receptores o la síntesis de nuevos receptores de etileno, o una combinación de ambos efectos (Villalobos-Acuña et al., 2011). En este estudio, la exposición de los frutos a 18°C durante 3 semanas no indujo un incremento de la producción de etileno. Sin embargo, se observó una mayor pérdida de firmeza y de color verde después de 195 d y de 195 d +7 d, respecto de la fruta tratada con 1-MCP (Figuras 6.3.2 y 6.3.3). En temporadas anteriores se evaluó el efecto del acondicionamiento (1, 2 ó 3 semanas a 17°C) en peras "Packham's Triumph" y se determinó que la eficacia de los tratamientos térmicos depende del tiempo de permanencia a 17°C, pero la incidencia de escaldado superficial se incrementó a medida que se reiniciaba la maduración. Ha sido sugerido que el tratamiento con calor en bananas podría incentivar la síntesis de receptores de etileno (Jiang et al., 1999). Dichos tratamientos fueron también eficaces en peras "Blanquilla" y "Bartlett" tratadas con 1-MCP, pero no en "Conference" y "Beurré d'Anjou" (Bai et al., 2009; Chiriboga et al., 2010). Bai et al., (2009) encontraron que la reversión de los efectos del 1-MCP en peras fue dependiente del cultivar, de la atmósfera y de la duración del almacenamiento. Las peras "Bartlett" tratadas con 0,3 $\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP recobraron su capacidad de madurar en respuesta a varias combinaciones de temperaturas (10-20°C) y tiempo (10-20 días) de acondicionamiento (Bai et al., 2009). Sin embargo, en peras "Beurré d'Anjou" ninguna combinación fue efectiva para revertir los efectos de 0,3 $\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP, pero sí cuando la concentración aplicada fue de 0,05 $\mu\text{L L}^{-1}$. Del mismo modo, 5 a 15 d a 15°C fue suficiente para recuperar la capacidad de maduración después de 4 meses de almacenamiento en peras "Blanquilla" tratadas en cosecha con 0,3 $\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP (Chiriboga et al., 2010). Además de la duración de la exposición a altas temperaturas, el cultivar y la duración del almacenamiento, la efectividad de estos tratamientos de temperatura dependen del tipo de almacenamiento, ya que la fruta almacenada en atmósfera controlada requiere una exposición más larga que cuando el almacenamiento es en aire regular (Bai et al., 2009).

Considerando el momento en que deberían aplicarse estas estrategias, la principal ventaja de los tratamientos térmicos radica en que pueden llevarse a cabo de acuerdo a las necesidades de comercialización, y no antes de su almacenamiento, como es el caso de otras estrategias como las aplicaciones simultáneas. En contraste, los tratamientos

térmicos implican problemas logísticos, sobre todo si la fruta está embalada en cajas con bolsas.

La demora de 30 días en la aplicación de 1-MCP permitió reducir ligeramente su efecto durante el almacenamiento, pero después de 7 días a 20°C los frutos tenían una firmeza similar a los controles y un color verde intermedio entre los frutos control y los tratados con 1-MCP (Figuras 6.3.2 y 6.3.3). Cuando se utilizó una mayor concentración de 1-MCP aplicada después del almacenamiento (800 MCP post almacenaje), los frutos se ablandaron durante la vida en estante pero presentaron una firmeza superior a los controles y un mayor color verde (Figura 6.3.3). Manriquez y Defilippi (2011) evaluaron el efecto de la demora del tratamiento con 1-MCP en peras “Packham’s Triumph” y encontraron que la respuesta en la maduración de los frutos fue intermedia entre el 1-MCP aplicado inmediatamente después de la cosecha y el control sin tratamiento. Durante el periodo de demora previo al tratamiento los frutos pueden madurar e incrementar las concentraciones de etileno endógenas en los tejidos, lo que disminuye la capacidad competitiva de las moléculas de 1-MCP de unirse a los receptores disponibles (Zhang et al., 2009, 2010). Se ha reportado que la demora en la aplicación de 1-MCP reduce la eficacia del tratamiento en varias frutas (Joyce et al., 1999; Zhang et al., 2009; Gamrasni et al., 2010).

Escaldado superficial

Los resultados presentados en este trabajo coinciden con la bibliografía, ya que la aplicación de 0,3 $\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP en cosecha inhibió el desarrollo de escaldado superficial (Figura 6.3.4), pero impidió también la normal maduración (Figura 6.3.3).

En los frutos control, la incidencia de escaldado superficial fue de 87% después de 195 días de almacenamiento y su posterior vida en estante. El desarrollo del escaldado en los tratamientos de reversión se relacionó claramente con la producción de etileno y la capacidad de maduración de los frutos. Los tratamientos que no inhibieron la producción de etileno (800 MCP post Almacenaje; 300 MCP demora), desarrollaron alta incidencia de escaldado (98 y 38%, respectivamente). Al contrario, la aplicación de etileno después de la conservación, que no fue efectiva para revertir los efectos del 1-MCP sobre la maduración, no estimuló la producción de etileno y los frutos no se escaldaron.

Tanto la aplicación simultánea de 600Et+600MCP, como el acondicionamiento térmico, controlaron eficazmente el escaldado (Figuras 6.3.2 y 6.3.4). En estos casos y tal como se podía esperar, la producción de etileno fue nula, similar a la de los frutos tratados con 1-MCP solo. Cuando se evaluó la aplicación simultánea en peras “Packhams Triumph”, las combinaciones 600MCP+600Et y 300MCP+150Et fueron los tratamientos más interesantes, ya que 300MCP+300Et mostraron mayor incidencia de escaldado superficial (Calvo y Candan, 2015). De la misma forma, la aplicación simultánea de 0,6 $\mu\text{L L}^{-1}$ 1-MCP y 0,3 $\mu\text{L L}^{-1}$ de etileno (1: 0,5) fue el tratamiento más promisorio en las peras “Conference” (Chiriboga et al., 2011).

Cabe destacar que en el caso del tratamiento de acondicionamiento es importante tener en cuenta la duración del periodo de exposición a altas temperaturas. En unos trabajos recientes en peras “Packham’s Triumph”, Calvo y Candan (2015) demostraron que una exposición de una semana permite revertir el bloqueo de maduración

manteniendo el efecto inhibitorio sobre el escaldado. Al contrario, tratamientos de 2 o 3 semanas agravaron el desarrollo de escaldado en los frutos.

6.5. Conclusiones

El tratamiento con $0,3 \mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP inhibió la producción de etileno de los frutos impidiendo la normal maduración de los mismos durante los periodos evaluados en este ensayo, lo que evidencia la necesidad de ajustar esta tecnología para su uso comercial. Si bien varias estrategias lograron modular el efecto del 1-MCP en distinto grado, el desarrollo de escaldado superficial después de la conservación limitaría la aplicación comercial de algunos tratamientos.

La inhibición competitiva de 1-MCP por el etileno (Etileno+1-MCP) y el tratamiento térmico (3 semanas a $18\text{ }^{\circ}\text{C}$) fueron las estrategias más prometedoras, ya que permitieron que los frutos inicien el proceso de ablandamiento durante la vida en estante, a la vez que controlaron efectivamente la escaldadura superficial en peras “Beurré d’Anjou”.

CAPITULO 7.

Optimización del almacenamiento con bajo O₂ en peras “Beurré d’Anjou”

7.1. Introducción

La eficiencia en el control de escaldado de peras aumenta a medida que disminuye el nivel de O₂ en la cámara de almacenamiento, pero también se incrementan los riesgos de desarrollar desórdenes, como el desarrollo de cavernas (Chen y Varga, 1989). El desarrollo de cavernas en el interior de los frutos es el síntoma más frecuente de toxicidad por dióxido de carbono (CO₂), un desorden fisiológico que afecta mayormente a peras de variedades sensibles como “Abate Fetel”, “Beurré d’Anjou”, “Beurre Bosc” y “Williams”. El estrés inducido por elevados niveles de CO₂ es aditivo, y a veces sinérgico, con el estrés causado por bajas concentraciones de O₂ y por la exposición a bajas temperaturas (Kader, 1992). Una conservación segura, que reduzca los daños por frío, por bajo O₂ o por alto CO₂, implica un compromiso entre los tres parámetros (Graell y Ortiz, 2003).

Este desorden se caracteriza por un leve pardeamiento de la pulpa del fruto en la región que rodea las cavidades de la semilla. El tejido afectado presenta un aspecto seco y de textura firme en contraste con la textura blanda y húmeda que se observa en el decaimiento interno. Frecuentemente este tejido seco colapsa para producir cavidades o cavernas, que pueden ser aisladas o comenzar a partir de las cavidades seminales. Se puede percibir aroma a fermentado cuando se abren las cámaras, cuando se retira el material de empaque o al cortar los frutos. Generalmente no se observan síntomas externos, aunque pueden aparecer en la piel manchas marrones bien definidas y parcialmente hundidas que, a diferencia del escaldado superficial, no progresan durante la vida en estante. Una vez que se manifiesta el daño por CO₂, este se agrava al prolongarse el periodo de almacenamiento (Benitez et al., 2005). El daño por alto CO₂ se observa cuando las concentraciones de este gas son mayores al 2-3% y los riesgos se incrementan cuando la concentración de O₂ es menor al 1-2%. En variedades muy sensibles, como “Beurré d’Anjou”, se han observado daños con concentraciones de CO₂ aun menores al 1%.

El principio básico de la atmósfera controlada dinámica (ACD) consiste en bajar los niveles de O₂ a valores cercanos, pero no inferiores al límite mínimo de oxígeno tolerado por la fruta. Para ello, es necesario monitorear y ajustar periódicamente los niveles de O₂. Con respecto a la conservación en AC, los frutos en ACD producen menos etileno, presentan mayor retención de color verde, mayores valores de acidez y un mayor control del escaldado superficial. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que al bajar los niveles de O₂ se incrementa la susceptibilidad de los frutos al daño por CO₂ (Prange et al., 2003).

Los resultados expuestos en el Capítulo 5 de esta tesis demuestran que tanto el 1-metilciclopropano (1-MCP) como la ACD redujeron significativamente el desarrollo de escaldado en peras “Beurré d’Anjou”. Sin embargo, los frutos almacenados en ACD presentaron daños por bajo O₂ y/o alto CO₂, que se manifestaron como cavernas internas. Teniendo esto en consideración, el objetivo de este Capítulo fue optimizar las condiciones de conservación en ACD, para lo cual se evaluó el efecto de mayores niveles de O₂ y menores concentraciones de CO₂, así como la combinación de ACD con una aplicación de bajas dosis de 1-MCP en peras “Beurré d’Anjou”.

7.2. Materiales y métodos

Material vegetal y tratamientos

Las peras “Beurré d’Anjou” (*Pyrus communis* L.) se cosecharon el día 8 de febrero, en estado de madurez óptimo, de la chacra comercial descrita en el Capítulo 2. Después de la cosecha, los frutos fueron trasladados al laboratorio de la Estación Experimental INTA Alto Valle, donde se seleccionaron frutos de tamaño uniforme y sin defectos y se dividieron en 4 lotes a los que se le realizaron los siguientes tratamientos:

- Control: Después de la cosecha los frutos se lavaron, y se almacenaron en frío convencional (FC) a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ sin ningún tratamiento.
- ACD: Los frutos se colocaron en contenedores herméticos de $0,86\text{ m}^3$ de acero inoxidable, donde se generó una atmósfera controlada dinámica en pasos, tal como se describió en el Capítulo 5. Para minimizar el daño por bajo O_2 y/o alto CO_2 que se observó en el ensayo descrito en el Capítulo 5, en este ensayo se decidió establecer un nivel mínimo de O_2 de 0,7% y mantener un contenido de CO_2 inferior a 0,4%.
- 1-MCP₁₅₀: Los frutos se colocaron dentro de un contenedor de $0,86\text{ m}^3$ de acero inoxidable, donde se realizó un tratamiento con $0,15\text{ }\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP, como se describió en el Capítulo 4, y se almacenaron como los controles en frío convencional (FC) a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- ACD+1-MCP₁₅₀: La aplicación de $0,15\text{ }\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP se realizó como se describió anteriormente, y los frutos tratados se almacenaron en canastos plásticos de 60 frutos cada uno, en contenedores herméticos donde se generó la ACD como se describió anteriormente.

Una vez finalizados los tratamientos, la fruta se embolsó en medias cajas con dos bandejas de cartón (20 frutas cada una) y bolsa de polietileno de baja densidad de $25\text{ }\mu\text{m}$ de espesor, sin perforar. Los frutos de todos los tratamientos se almacenaron durante 240 días a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 95% HR.

Determinaciones de madurez

Se determinó sobre 5 repeticiones de 10 frutos, antes de los tratamientos (madurez inicial) y después de 60, 120, 180 y 240 días de almacenamiento a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$; luego del almacenamiento refrigerado y de 7 días de vida en estante a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ como se describió en el Capítulo 2.

Producción de etileno

Se determinó sobre 5 repeticiones de 1 fruto después de 60, 120, 180 y 240 días a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y durante 21 días de vida en estante a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, como se describió en el Capítulo 2.

Contenido de α -farnesenos (AF) y trienos conjugados (CTols)

Las determinaciones de AF y CTols se realizaron después de 0, 60, 120, 180 y 240 días en $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ en 5 repeticiones de 10 frutos, como fue descrito en el Capítulo 2.

Desarrollo de escaldado superficial y cavernas

La incidencia y severidad de escaldado superficial se determinó de forma visual sobre 5 repeticiones de 10 frutos cada una después de 60, 120, 180 y 240 días a $-0,5^{\circ}\text{C}$ y 7 días a 20°C , como se describió en el Capítulo 2.

Se determinó la incidencia de cavernas (Fotografía 5.3.1) de forma visual sobre 3 repeticiones de 20 frutos cada una, después de los distintos periodos de almacenamiento previstos a la salida de la cámara y después de 7 días a 20°C . Se realizó el promedio de las dos evaluaciones, ya que esta fisiopatía no evoluciona durante la vida en estante.

Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) utilizando el programa INFOSTAT Profesional de software / versión 2006p.1. La separación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey con un nivel de significación del 0,05 (valores de p).

7.3. Resultados

De acuerdo con los valores de referencia citados por Benítez (2001), los frutos de este ensayo se cosecharon en estado óptimo de madurez. La producción de etileno de las peras “Beurré d’Anjou” durante su vida en estante posterior a la cosecha fue indetectable.

Para minimizar el daño por bajo O_2 y/o alto CO_2 que se observó en el ensayo descrito en el Capítulo 5, en este ensayo se estableció una atmósfera promedio de 0,7% de O_2 con un contenido de CO_2 inferior a 0,4%. Estos niveles se lograron durante la mayor parte de la conservación en ambos contenedores. En el tratamiento de ACD la relación O_2/CO_2 fue de 0,7/0,3 durante la mayor parte del periodo evaluado (Figura 7.3.1A). En el tratamiento ACD+1-MCP₁₅₀ durante la mayor parte del periodo de conservación se mantuvo la relación O_2/CO_2 de 0,8%/0,3%. Durante el almacenamiento de las peras “Beurré d’Anjou” no se observó un pico de fluorescencia de la clorofila (síntoma de estrés) por bajo O_2 , ya que los niveles registrados de O_2 fueron superiores a 0,7%.

Cuadro 7.3.1. Indices de madurez inicial de peras “Beurré d’Anjou” cosechadas el 8 de febrero. Los valores representan la media \pm DE.

Indice	Valor \pm DE
Firmeza (N)	63,6 \pm 0,9
SST (%)	10,7 \pm 0,7
AT (g L ⁻¹)	3,5 \pm 0,5
Color (hue)	118,8 \pm 0,8
Degradación Almidón (%)	36,1 \pm 16,2

Efecto de los tratamientos sobre la producción de etileno

Después de 60 días de almacenamiento, la producción de etileno fue baja en todos los tratamientos. Los controles mostraron un incremento (valores superiores a 1 nL g⁻¹ h⁻¹

1) después de 15 días a 20°C, mientras que los demás tratamientos redujeron la producción con respecto al control (Figura 7.3.2A). A los 120 días de almacenamiento se observó una producción de etileno de 14 nL g⁻¹ h⁻¹ al salir del almacenamiento en los frutos control y ésta se incrementó rápidamente durante la vida en estante hasta alcanzar el pico climatérico luego de 7 días a 20 °C, con una magnitud de 27 nL g⁻¹ h⁻¹ (Figura 7.3.2B). Después de 180 y 240 días de almacenamiento, el pico climatérico de los frutos control se observó después de 5 y 11 días respectivamente, con una disminución posterior (Figura 7.3.2CD).

El almacenamiento en ACD redujo significativamente la producción de etileno; los frutos presentaron un retraso de 9, 7, y 3 días en el pico climatérico con respecto al control, después de 120, 180 y 240 días de almacenamiento, respectivamente. La aplicación de 0,15 µL L⁻¹ de 1-MCP fue aún más efectiva que la ACD en reducir la producción de etileno durante la vida en estante, registrándose valores bajos (menores a 5 nL g⁻¹ h⁻¹) después de todos los periodos de almacenamiento y sin presentar un pico climatérico (Figura 7.3.2). Por último, la combinación de ACD+1-MCP₁₅₀ inhibió completamente la producción de etileno durante todo el periodo evaluado, mostrando un efecto sinérgico entre ambas tecnologías, que se hizo evidente después de largos periodos de almacenamiento (180 y 240 días) (Figura 7.3.2).

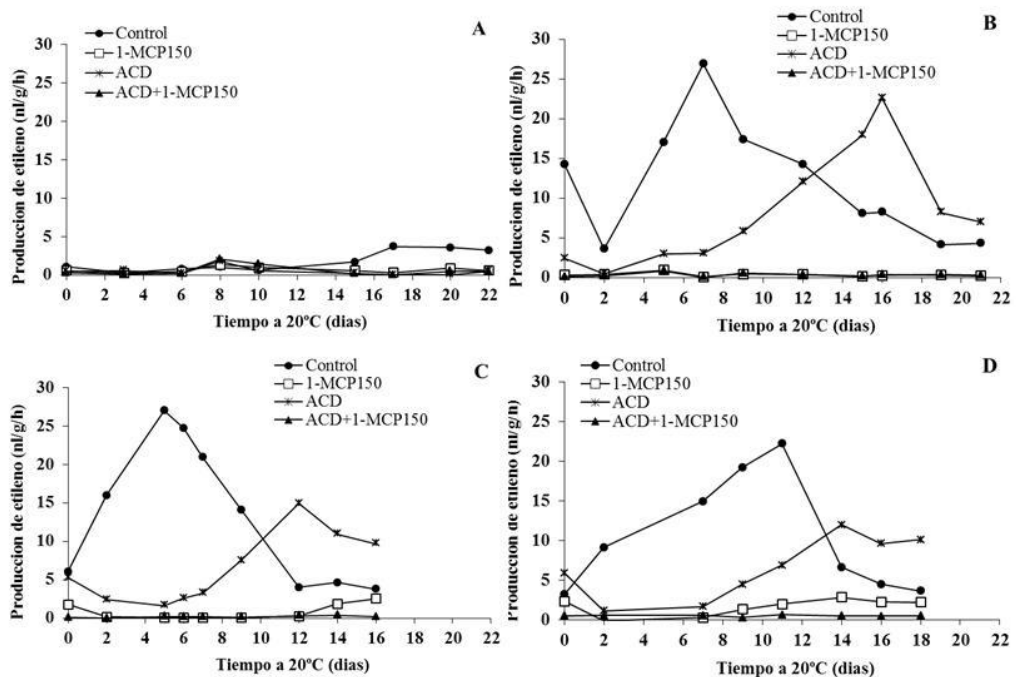


Figura 7.3.2. Producción de etileno de peras “Beurré d’Anjou” sin tratar (control), tratadas con 0,15 µL L⁻¹ de 1-MCP y almacenadas a -0,5°C (1-MCP₁₅₀), almacenadas en ACD (ACD) y tratadas con 0,15 µL L⁻¹ de 1-MCP y almacenadas en ACD (ACD+1-MCP₁₅₀). Evaluaciones realizadas durante la vida en estante (20 °C) de los frutos después de 60 (A), 120 (B), 180 (C), 240 (D) días de almacenamiento a -0,5 °C.

Efecto de los tratamientos sobre la madurez después del almacenamiento

Cuadro 7.3.2. Firmeza (N) de peras “Beurré d’Anjou” sin tratar (control), tratadas con 0,15 $\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas a $-0,5^{\circ}\text{C}$ (1-MCP₁₅₀), almacenadas en ACD (ACD) y tratadas con 0,15 $\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas en ACD (ACD+1-MCP₁₅₀), evaluados después de 60,120, 180 y 240 días de almacenamiento a $-0,5^{\circ}\text{C}$ y 7 días a 20°C . Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes, Tukey $\alpha=0,05$.

Tiempo a 20°C (días)	Tratamiento	Tiempo a $-0,5^{\circ}\text{C}$ (días)			
		60	120	180	240
0	Control	64,6 a	48,0 b	31,5 b	27,4 c
	ACD	67,7 a	62,7 a	63,1 a	60,2 a
	1-MCP ₁₅₀	62,9 a	60,7 a	60,7 a	47,4 b
	ACD+1-MCP ₁₅₀	64,7 a	63,8 a	61,2 a	61,4 a
	Valor de p	0,0676	<0,0001	<0,0001	<0,0001
7	Control	25,7 c	8,4 d	11,3 c	14,8 c
	ACD	57,6 b	14,8 c	14,5 c	17,5 bc
	1-MCP ₁₅₀	63,5 ab	56,6 b	29,3 b	18,7 b
	ACD+1-MCP ₁₅₀	66,8 a	61,8 a	62,7 a	64,8 a
	Valor de p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Cuadro 7.3.3. Color de la epidermis (Hue) de peras “Beurré d’Anjou” sin tratar (control), tratadas con 0,15 $\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas a $-0,5^{\circ}\text{C}$ (1-MCP₁₅₀), almacenadas en ACD (ACD) y tratadas con 0,15 $\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas en ACD (ACD+1-MCP₁₅₀), evaluados después de 60,120,180 y 240 días de almacenamiento a $-0,5^{\circ}\text{C}$ y 7 días a 20°C . Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes, Tukey $\alpha=0,05$.

Tiempo a 20°C (días)	Tratamiento	Tiempo a $-0,5^{\circ}\text{C}$ (días)			
		60	120	180	240
0	Control	114,9 b	111,9 c	106,8 c	102,2 d
	ACD	117,2 a	117,6 a	116,9 a	115,2 b
	1-MCP ₁₅₀	116,4 a	114,4 b	112,9 b	109,7 c
	ACD+1-MCP ₁₅₀	117,7 a	117,8 a	117,5 a	117,5 a
	Valor de p	0,0014	<0,0001	<0,0001	<0,0001
7	Control	113,5 c	103,1 c	98,1 c	94,8 d
	ACD	117,2 a	112,9 b	111,7 b	111,2 b
	1-MCP ₁₅₀	115,8 b	113,3 b	109,2 b	103,0 c
	ACD+1-MCP ₁₅₀	117,9 a	117,3 a	116,4 a	115,9 a
	Valor de p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Comparando los valores entre cosecha (Cuadro 7.3.1) y la evaluación de 240 d (Cuadro 7.3.2) los controles perdieron firmeza (36,2 N) y color verde (16,6 hue) durante todo el periodo de almacenamiento, lo que se acentuó durante la vida en estante (Cuadros 7.3.2 y 7.3.3). Todos los tratamientos redujeron significativamente la pérdida de firmeza con respecto al control a partir de los 120 días de almacenamiento (Cuadro 7.3.2). Durante la vida en estante, el tratamiento más efectivo para reducir la pérdida de firmeza después de todos los periodos de almacenamiento fue la combinación de ACD+1-MCP₁₅₀, seguida por la aplicación de una baja dosis de 1-MCP. La ACD fue menos efectiva, aunque los frutos siempre estuvieron más firmes que los controles.

Todos los tratamientos redujeron la pérdida de color con respecto al control después del almacenamiento y durante la vida en estante (Cuadro 7.3.3). La combinación de ACD+MCP150 fue el tratamiento más efectivo en mantener el color verde, seguida por la ACD y por último el 1-MCP. Esto demuestra que existe un efecto sinérgico entre ambas tecnologías, al igual que pudo observarse respecto a los valores de firmeza.

Contenido de α -farnesenos (AF) y trienos conjugados (CTols)

El contenido de α -farnesenos (AF) fue bajo al momento de la cosecha. Al extenderse el periodo de almacenamiento, el contenido se incrementó en los controles, alcanzándose el mayor nivel ($39,6 \text{ nmol cm}^{-2}$) después de 120 días de almacenamiento (Figura 7.3.3.A). El almacenamiento en ACD y la aplicación de 1-MCP₁₅₀, y más aún, la combinación de ambas tecnologías redujeron la acumulación de α -farnesenos, comparada con el control. En el caso de los tratamientos ACD y 1-MCP₁₅₀, el incremento en el contenido de α -farnesenos a los 240 d de almacenamiento estuvo asociado a un incremento en la producción de etileno (Figura 7.3.3). En cambio, en los frutos de ACD+MCP₁₅₀ se registró un aumento de los α -farnesenos mientras que la producción de etileno se mantuvo indetectable.

El contenido de trienos conjugados (CTols) se incrementó en los controles hasta los 180 días ($18,8 \text{ nmol cm}^{-2}$), para descender levemente a los 240 días (Figura 7.3.4B). Como se esperaba, la ACD y el 1-MCP₁₅₀ redujeron la acumulación de CTols, que se incrementó hacia el final, alcanzando valores máximos de 7,5 y 5,1 nmol cm^{-2} , respectivamente. La combinación de ambas tecnologías fue más efectiva, ya que los valores de CTols al final de la conservación fueron de 2,6 nmol cm^{-2} (Figura 7.3.3.B). Si se observa la evolución de los CTols a lo largo del almacenamiento, pueden identificarse 3 patrones de acumulación: el control, que se caracteriza por la alta acumulación desde el inicio del almacenamiento; la ACD y el 1-MCP, con un incremento tardío en el contenido de CTols; y la combinación ACD+1-MCP₁₅₀, que presenta un bajo contenido de CTols durante todo el periodo evaluado (Figura 7.3.3.B).

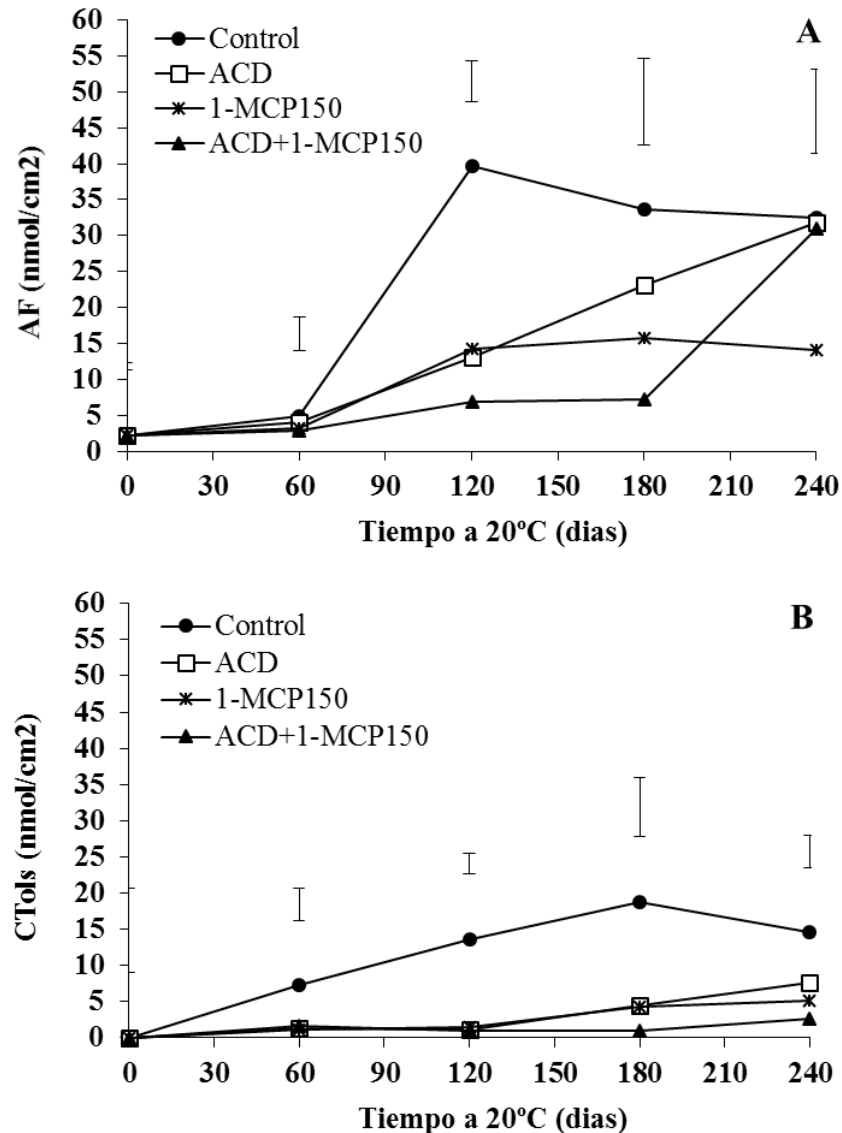


Figura 7.3.3. Contenido de α -farnesenos (A) y de trienos conjugados (B) de peras “Beurré d’Anjou” sin tratar (control), tratadas con $0,15 \mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas a $-0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ (1-MCP₁₅₀), almacenadas en ACD (ACD) y tratadas con $0,15 \mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas en ACD (ACD+1-MCP₁₅₀). Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición) y las líneas verticales indican el DMS según Tukey (0,05).

Desarrollo de Escaldado Superficial

No se observó desarrollo de escaldado en ningún tratamiento después de 60 días de almacenamiento (datos no presentados). Después de 120 días de almacenamiento a $-0,5^\circ\text{C}$ y 7 días a $20 \text{ }^\circ\text{C}$, los controles tuvieron una incidencia de 45% de escaldado, que se incrementó a 80% y 100% después de 180 y 240 días, respectivamente. El tratamiento con $0,15 \mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP redujo significativamente el porcentaje de fruta afectada, desarrollándose un máximo de 10% a los 240 días. La ACD fue igualmente efectiva en reducir la incidencia de esta fisiopatía, afectando al 6,7% de los frutos en la última evaluación. Solo la combinación de ambas tecnologías inhibió absolutamente el desarrollo de esta fisiopatía durante todo el periodo evaluado (Figura 7.3.4).

Similarmente a lo observado para los trienos conjugados, se observan tres patrones de desarrollo de escaldado superficial: el control, que presentó elevados porcentajes de fruta afectada y mayor severidad de síntomas; la ACD y el 1-MCP, que se caracterizaron por una baja incidencia de escaldado superficial manifestado después de largos periodos de almacenamiento y sólo con severidad Grado 1; y por último la ACD+1-MCP₁₅₀, que mantuvieron un control absoluto de los síntomas de escaldado superficial a lo largo de todo el periodo evaluado (Figura 7.3.4).

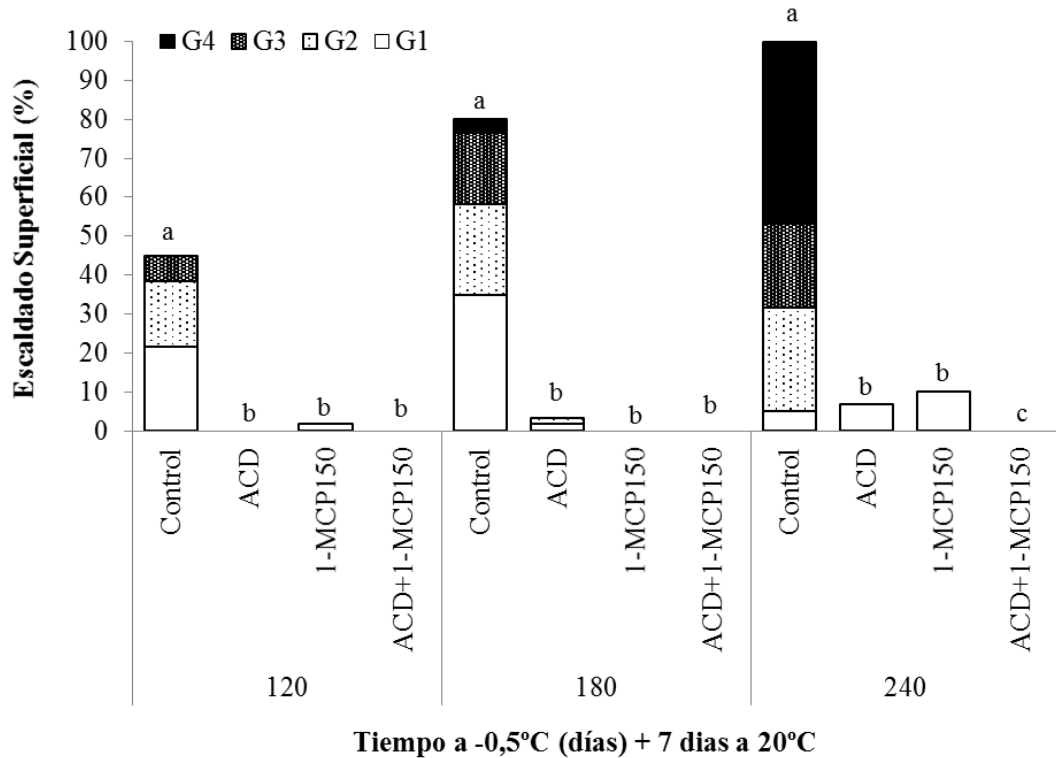


Figura 7.3.4. Incidencia y severidad de escaldado superficial de peras “Beurré d’Anjou” sin tratar (control), tratadas con $0,15 \mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas a $-0,5^\circ\text{C}$ (1-MCP₁₅₀), almacenadas en ACD (ACD) y tratadas con $0,15 \mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas en ACD (ACD+1-MCP₁₅₀), evaluadas después de 60, 120, 180 y 240 días de almacenamiento a $-0,5^\circ\text{C}$ y 7 días a 20°C .

Desarrollo de Cavernas

Los únicos frutos que presentaron síntomas de cavernas (Fotografía 5.3.1) fueron aquellos almacenados en ACD, y en la combinación de ACD+1-MCP₁₅₀ con una incidencia entre 13 y 26% a los 60 días de almacenamiento, que se incrementó a 35 y 41% después de 240 días. En general el tratamiento con 1-MCP incrementa la incidencia de este desorden favoreciendo un desarrollo más temprano de los síntomas (Figura 7.3.5).

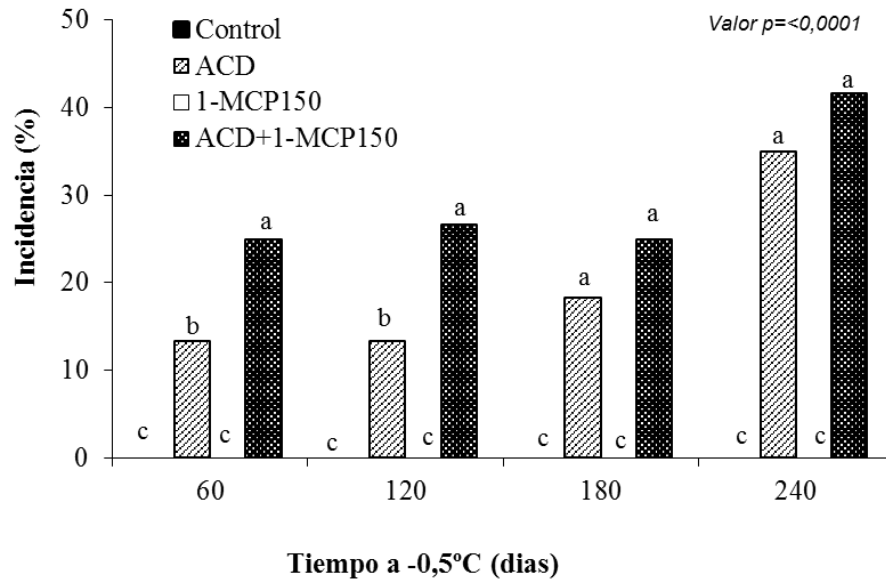


Figura 7.3.5. Incidencia de cavernas de peras “Beurré d’Anjou” sin tratar (control), tratadas con $0,15 \mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas a $-0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ (1-MCP₁₅₀), almacenadas en ACD (ACD) y tratadas con $0,15 \mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP y almacenadas en ACD (ACD+1-MCP₁₅₀), evaluadas después de 60, 120, 180 y 240 días de almacenamiento a $-0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ y 7 días a $20 \text{ }^\circ\text{C}$.

7.4. Discusión

Efecto de los tratamientos sobre la madurez

Las peras utilizadas en este ensayo no produjeron etileno durante su vida en estante posterior a la cosecha (datos no presentados). Esto se debe a que la mayoría de las peras de invierno, como “Beurré d’Anjou”, requieren la exposición a bajas temperaturas para producir etileno a una tasa suficientemente alta para activar y completar el proceso de maduración (Villalobos-Acuña y Mitcham, 2008). Las bajas temperaturas de conservación incentivaron la producción de etileno de los frutos durante la vida en estante posterior al almacenamiento. La producción fue baja después de 60 días (Figura 7.3.3A), sin embargo, los frutos de los controles se ablandaron durante la vida en estante (Cuadro 7.3.2). A partir de los 120 días de almacenamiento, la producción de etileno en los controles se incrementó (Figura 7.3.3), así como la tasa de ablandamiento (Cuadro 7.3.2).

La síntesis del etileno procede de la oxidación del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), constituyendo éste último el precursor inmediato del etileno. La enzima que media este paso es la ACC oxidasa (ACO), enzima de la familia de dioxigenasas, que usan oxígeno molecular y ácido ascórbico como co-sustrato, y hierro como co-factor en la producción de etileno (Vioque y Castellano, 1998). Por lo tanto, cuanto más bajo es el nivel de O_2 (como en la ACD) más efectivamente se controla uno de los sustratos necesarios para la actividad catalítica de la ACO y la subsecuente producción de etileno. En este ensayo, el almacenamiento en ACD redujo la producción de etileno, pero su efecto fue menor al observado con el tratamiento con 1-MCP. Los frutos, aunque con retraso respecto al control, siempre presentaron un claro pico climatérico (Figura 7.3.3). Esto coincide con lo observado en ensayos anteriores

realizados en este cultivar, en los cuales los frutos almacenados en ACD presentaron un retraso del climaterio respecto al control (Calvo y Candan, 2011). La ACD y, más aún, la combinación de ACD+1-MCP₁₅₀ redujeron la pérdida de firmeza y de color, pero no permitieron la normal maduración de los frutos. El efecto de la ACD sobre el mantenimiento del color verde ha sido anteriormente demostrado en ésta y otras variedades de pera como así también en manzanas (Candan y Calvo, 2009; Candan et al., 2010).

La aplicación de 0,15 $\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP redujo significativamente la producción de etileno durante la vida en estante después de todos los periodos de almacenamiento evaluados (Figura 7.3.3). De manera similar, otros investigadores han observado el efecto inhibitorio del 1-MCP sobre la producción de etileno en numerosos cultivares de peras (Argenta et al., 2003; Ekman et al., 2004; Larrigaudière et al., 2004; Trincherio et al., 2004; Gapper et al., 2006). Esta reducción en la producción de etileno se tradujo en mayores valores de firmeza y de color verde con respecto al control (Cuadros 7.3.2 y 7.3.3). En la región de Alto Valle de Río Negro, las principales empresas empacadoras-exportadoras de manzanas tratan una gran parte de la producción con 1-MCP como complemento del uso del frío. En la temporada 2011 se aplicó SmartFresh® a 175.000 toneladas de manzanas, correspondiendo a un 65% de “Red Delicious”, 14% “Granny Smith”, 20% “Gala” y 1% “Pink Lady”. En el caso de las peras, se aplicó a 5.600 toneladas siendo 63% “Williams”, 35% “Beurré d’Anjou” y “Packhams Triumph” y 2% “Abate Fetel” (Datos suministrados por la empresa AgroFresh). La menor aplicación en el caso de las peras respecto a las manzanas, se debe a que, en este caso, se requiere aplicar una concentración de 1-MCP que sea suficiente para retrasar la maduración durante el tiempo necesario, pero que permita la correcta maduración de la fruta después de la conservación en frío. Es frecuente observar que la aplicación de la dosis registrada (0,30 $\mu\text{L L}^{-1}$) inhiba la normal maduración de los frutos de peras. En ensayos anteriores realizados en peras “Beurré d’Anjou” tratadas con 0,30 $\mu\text{L L}^{-1}$ 1-MCP, la firmeza se mantuvo por encima de los valores de consumo en todas las evaluaciones, lo cual es una limitante para el uso de esta tecnología en esta variedad (Calvo y Candan, 2011). Debido a ello, esta temporada se utilizó la mitad de la dosis, y esta estrategia fue válida para lograr el normal ablandamiento de los frutos, ya que los frutos alcanzaron madurez de consumo a partir de los 180 días de almacenamiento permitiendo además un efectivo control del escaldado hasta el final del periodo evaluado.

La combinación de ambas tecnologías ACD+1-MCP₁₅₀ fue el único tratamiento que inhibió completamente la producción de etileno durante todo el periodo evaluado (Figura 7.3.3). Estos resultados sugieren que existe un efecto aditivo entre el almacenamiento en ACD y el tratamiento con 1-MCP, ya que la combinación de ambos resultó ser el tratamiento más efectivo. Este efecto aditivo también fue observado previamente en manzanas tratadas con 1-MCP y almacenadas en AC (Calvo, 2001).

Contenido de α -farnesenos y trienos conjugados y escaldado superficial

Para controlar el escaldado se debe evitar la formación, favorecer la eliminación o bien impedir la oxidación de los α -farnesenos (Whitaker, 2004). En el capítulo 2 de esta tesis se definió un valor umbral de 20 nmol cm⁻² de CTols por encima del cual se observaron síntomas de escaldado. En los resultados presentados en este capítulo se observa también una relación entre los niveles de CTols y el escaldado, pero el valor del umbral fue menor. En los controles, se observó una incidencia de escaldado a partir de los 120 días de almacenamiento (Figura 7.3.5), cuando el valor de CTols había alcanzado 13,7 nmol cm⁻² (Figura 7.3.6). Asimismo, en los frutos almacenados en ACD se manifestó una baja incidencia de escaldado (3,3%) después de 180 días (Figura 7.3.5), y el umbral de CTols era de 4,4 nmol cm⁻² (Figura 7.3.6). Si bien estos resultados no eran los esperados, investigaciones recientes han demostrado la participación de otros compuestos en el desarrollo de escaldado que podrían explicar estos resultados. Busatto et al (2014) encontraron que el escaldado superficial en manzanas está asociado a un proceso de oxidación que conduce a una regulación específica de la ruta de biosíntesis de ácido clorogénico. Este compuesto se acumula en la piel del fruto durante el desarrollo de escaldado y se oxida por la acción de la enzima polifenol oxidasa (PPO). Las formas oxidadas de quinona son responsables de la formación de melanina y la posterior coloración marrón. Por otro lado, el tratamiento con 1-metilciclopropeno (1-MCP) afecta tanto a la producción de ácido clorogénico, como las actividades PPO, bloqueando la progresión del escaldado superficial. Estas relaciones merecen estudios posteriores para especificar el rol de los trienos conjugados y el ácido clorogénico en el desarrollo de escaldado en peras.

Se ha demostrado que la conservación en atmósferas con mínimos valores de O₂ y máximos de CO₂ reduce efectivamente el desarrollo de escaldado (Ingle y D'Souza, 1989). En este ensayo, los frutos almacenados en ACD presentaron una menor acumulación de α -farnesenos que los controles y niveles bajos de trienos conjugados, lo cual se debería a una menor oxidación de los α -farnesenos. Consecuentemente, estos frutos mantuvieron una baja incidencia de escaldado superficial, pero no un control absoluto (Figura 7.3.5). Estos resultados son consistentes con los observados en ensayos anteriores realizados en peras "Beurré d'Anjou" almacenadas durante 200 días, donde se observó una reducción del escaldado en frutos almacenados en ACD (Candan y Calvo, 2009, 2010). El control de esta fisiopatía mediante ACD también fue observado en manzanas "Pink Lady" y "Granny Smith" (Candan y Calvo, 2008).

La acción del 1-MCP sobre el metabolismo del etileno es actualmente ampliamente conocida. Como inhibidor de la acción del etileno, el 1-MCP previene la acumulación de α -farneseno (Gong y Tian, 1998; Watkins et al, 1995; Whitaker et al, 2000) y por lo tanto la acumulación de trienos conjugados. En este ensayo, aún aplicando dosis bajas, el 1-MCP fue efectivo para limitar los niveles de estos compuestos observando niveles de CTols por debajo de 5,5 nmol cm⁻² durante todo el periodo evaluado. Hay numerosos antecedentes que muestran la efectividad del 1-MCP para controlar el escaldado en manzanas (Whitaker et al, 1997; Fan et al, 1999; Watkins et al., 2000) y en peras (Ekman et al., 2004; Isidoro y Almeida, 2006). Bai et al. (2009) determinaron que la aplicación de dosis inferiores a 0,30 μ L L⁻¹ de 1-MCP es insuficiente para controlar esta fisiopatía, pero en este ensayo la fruta tratada con 0,15 μ L L⁻¹ de 1-MCP mantuvo una incidencia de escaldadura inferior al 10% con una severidad mínima de síntomas durante todo el periodo evaluado (Figura 7.3.6).

La ACD y el 1-MCP a bajas dosis mostraron efectos similares ya que ambas tecnologías redujeron efectivamente el escaldado superficial y permitieron la normal maduración de los frutos posterior al almacenamiento. Teniendo en cuenta que el almacenamiento en ACD con los niveles de gases utilizados en este ensayo indujeron el desarrollo de cavernas en los frutos, la aplicación de bajas dosis de 1-MCP sería la alternativa más válida para peras “Beurre D’ Anjou”. Por ultimo, la combinación de ACD+1-MCP₁₅₀ fue el único tratamiento que brindo un control absoluto de los síntomas de escaldado superficial después de 240 d (Figura 7.3.5), sin embargo, al no permitir el ablandamiento de los frutos esta estrategia requiere ajustes ara poder utilizarse a nivel comercial.

Desarrollo de cavernas

La ACD constituye una interesante herramienta para la conservación de peras y manzanas de corto y largo potencial de conservación. Hasta el momento, el uso comercial de la ACD ha sido mayormente evaluado en manzanas, especie en la cual favorece el mantenimiento de la firmeza y la acidez, y reduce el desarrollo de algunos desórdenes internos sin afectar la calidad sensorial de los frutos (Prange et al., 2003; DeLong et al., 2004; Zanella et al., 2005; Candan y Calvo, 2008). Además, la ACD reduce la incidencia de escaldado superficial en manzanas en comparación de la AC tradicional (DeLong et al., 2007). Existen pocos antecedentes sobre los efectos de la ACD en peras. Mattheis y Rudell (2011) determinaron que la ACD en peras “Beurré d’Anjou” puede prevenir el escaldado superficial pero con posibilidad de desarrollo de “pecas negras” (Black Speck) así como un insuficiente ablandamiento durante el periodo normal de vida en estante de los frutos. Un trabajo anterior mostró que la ACD mantuvo la acidez y el color verde de los frutos y redujo significativamente la incidencia y severidad de escaldado superficial en peras “Beurré d’Anjou” pero los frutos manifestaron síntomas de cavernas (Candan et al., 2010). En el Capítulo 5 de esta tesis, se observó una incidencia de 21% y 17% de cavernas después de 210 y 270 días de almacenamiento en peras “Beurré d’Anjou” almacenadas en ACD. Debido a ello, en este ensayo se decidió establecer una atmósfera promedio para todo el periodo de almacenamiento de 0,7% de O₂ y niveles de CO₂ inferior a 0,4%. Sin embargo, y aunque este porcentaje de CO₂ fue inferior al establecido en el Capítulo 5 (entre 0,8 y 1%), la incidencia de cavernas en este ensayo fue mayor (35%) después de 240 días de almacenamiento (Figura 7.3.6). Esto sugiere que aunque el desarrollo de cavernas ocurre bajo condiciones de AC, la severidad e incidencia de los daños está relacionada con otros factores además del CO₂, como por ejemplo las condiciones precosecha de los frutos. Esto también explicaría por qué en otras regiones productoras, el almacenamiento en ACD no ocasiona cavernas, aunque sí otros desórdenes como pecas negras (Mattheis y Rudell, 2011).

Se debe considerar que cuanto mas bajos son los valores de oxígeno, más efectivo es el control de escaldado. Al tener que utilizar niveles de oxígenos mayores, y no los minimos tolerados por la fruta, la eficiencia en el control de escaldado podría reducirse. En ensayos anteriores realizados con en este mismo cultivar, se registró un pico de fluorescencia cuando se alcanzaron niveles de 0,2% de O₂ y 0,4% de CO₂ (Candan et al., 2010). En otro trabajo anterior de Candan y Calvo (2009), no se detectaron picos de estrés en esta variedad debido, probablemente, a que no se alcanzaron valores tan bajos de oxígeno, lo cual sugiere que 0,2% sería el mínimo valor de oxígeno (LOL: lowest oxygen level) tolerado por esta variedad.

La combinación de ACD+1-MCP incrementó la susceptibilidad de los frutos a este desorden y al final del almacenamiento la incidencia de cavernas en ACD+1-MCP fue de 41% (Figura 7.3.7). Este resultado puede indicar que los frutos menos maduros son más propensos a la aparición de cavernas, o que la inhibición de la síntesis del etileno en frutos tratados con 1-MCP impide dar respuesta al estrés, aumentando así la susceptibilidad de la fruta a este tipo de daño. Ésto se podría corroborar almacenando frutas de distintos estados de madurez a cosecha, o evaluando el efecto de la aplicación de etileno exógeno. Se propone seguir ajustando esta tecnología para su uso en peras “Beurré d’Anjou”, altamente sensibles a este daño.

7.5. Conclusiones

Todos los tratamientos aplicados redujeron la producción de etileno y la tasa de maduración de los frutos durante el periodo evaluado.

El almacenamiento en ACD con mayor concentración de O₂ y menor concentración de CO₂ (0,7% y 0,4% respectivamente) y la aplicación de bajas dosis de 1-MCP (0,15 μL L⁻¹) redujeron significativamente el desarrollo de escaldado comparado al control, pero sólo la combinación de ambas tecnologías (ACD+1-MCP₁₅₀) brindó un control absoluto. Sin embargo, el desarrollo de cavernas limita la aplicación comercial de ACD y ACD+1-MCP₁₅₀ en peras “Beurré d’Anjou”.

La reducción del porcentaje de CO₂ evaluado en este ensayo no fue suficiente para reducir la incidencia de cavernas. La combinación de ACD+1-MCP₁₅₀ incrementa la susceptibilidad de los frutos a este desorden a la vez que inhibe totalmente el ablandamiento del fruto a 20°C. En conjunto, esta tecnología no es segura para utilizarse a nivel comercial en peras “Beurre D’ Anjou” por lo cual se debe continuar con su optimización.

CAPITULO 8.

Conclusiones Generales

8. Conclusiones Generales

Esta tesis ha permitido aportar nuevos conocimientos sobre las bases bioquímicas del escaldado superficial en peras, estableciendo el rol del etileno, de los trienos conjugados y de los antioxidantes endógenos en el desarrollo de esta fisiopatía. Aunque los sistemas estudiados no permitieron controlar de forma satisfactoria el escaldado en pera manteniendo a su vez la calidad general de los frutos, los conocimientos vislumbrados constituyen una herramienta fundamental para el desarrollo de un sistema de control confiable, capaz de reemplazar el uso de antiescaldante químicos.

Hasta la fecha se había asumido que la relación entre la madurez de los frutos y la incidencia de escaldado superficial en peras era igual que la observada en manzanas. Sin embargo, los resultados obtenidos en “Beurré d’Anjou” y “Packham’s Triumph” demuestran que, contrariamente a lo que ocurre en manzanas, las peras cosechadas más temprano son menos sensibles al escaldado que las cosechadas más tarde. Se acepta por lo tanto la primer parte de la hipótesis, ya que se demostró que la influencia del etileno, trienos conjugados, potencial antioxidante y madurez a cosecha y variedad es diferente en peras que en manzanas. Este hallazgo es de gran importancia ya que permite orientar las medidas de control, comenzando por la recomendación de realizar una cosecha temprana.

Los resultados obtenidos mostraron la gran especificidad que presenta el modelo, el cual no parece ser estrictamente dependiente de la tasa de producción de etileno. Las peras “Packham’s Triumph”, aun produciendo tasas de etileno 3 a 4 veces superiores a la “Beurré d’Anjou”, se mostraron significativamente menos sensibles al escaldado.

No se observó una relación estricta entre capacidad de producción de etileno y los niveles de α -farneseno. Los frutos que no producían etileno presentaron niveles importantes de α -farneseno, lo que indica que en pera, la síntesis de α -farneseno no es estrictamente etileno dependiente y podría ser regulada por otros factores como, por ejemplo, el frío. Estos resultados aún por completar son novedosos y de gran utilidad para entender la etiología del escaldado en pera durante su conservación.

Se ha podido establecer también un nivel crítico de trienos conjugados (CTols) necesario para desencadenar el desorden en las dos variedades de pera. Se pudo constatar que estos niveles son muy bajos, del orden de 17-24 nmol cm⁻² para “Beurré d’Anjou” y de 10-14 nmol cm⁻² en “Packham’s Triumph”, considerando que en manzana son 20 a 30 veces mayores. La definición de niveles críticos de CTols se puede considerar además como una determinación rápida para predecir la “situación de riesgo” de un lote de fruta. Debido al gran interés de este hallazgo, se realizarán estudios posteriores a esta tesis con la finalidad de determinar este valor umbral en otras variedades de pera.

En manzanas se ha demostrado que la menor sensibilidad al escaldado en frutos cosechados más tarde se relaciona con un mayor contenido de antioxidantes en la piel. El papel de los antioxidantes en peras era aún desconocido. En esta tesis se demostró que existe una relación negativa entre el contenido de ácido ascórbico y el tiempo de aparición de escaldado en peras. De esta forma, el mayor contenido de ácido ascórbico se correlaciona con el retraso de la aparición de escaldado en peras “Packham’s Triumph” en relación a “Beurré d’Anjou”, y con la inhibición del escaldado observado en los frutos tratados con 1-MCP. Por lo tanto se confirmó que el escaldado se asocia a

un problema oxidativo, en el cual el ácido ascórbico parece tener un papel importante, lo cual podría servir para predecir la sensibilidad al escaldado en diversos cultivares de pera. Estos datos son totalmente novedosos y abren nuevas perspectivas en el largo camino que aún queda para resolver control del escaldado en pera.

A diferencia de la manzana, las peras necesitan perder firmeza para alcanzar la madurez de consumo. Esto implica que las estrategias de control utilizadas en manzana que permiten controlar el escaldado limitando los procesos de maduración no son adecuadas en peras. Se evaluaron distintos tratamientos poscosecha y se analizaron sus efectos sobre el control del escaldado y la maduración. La aplicación de poliaminas, de radiación UVC y los tratamientos térmicos no fueron estrategias efectivas para el control de escaldado superficial. En cambio, la aplicación de 1-MCP y el almacenamiento en ACD inhibieron el desarrollo de esta fisiopatía, pero se manifestaron problemas asociados. El tratamiento con 1-MCP bloqueó la maduración de los frutos, mientras que la conservación en ACD ocasionó la aparición de daños internos (cavernas).

Se estudiaron diversas estrategias para lograr la maduración de los frutos tratados con 1-MCP y en general, lograron modular el efecto del 1-MCP sobre la maduración, pero redujeron también su efectividad en el control de escaldado. La inhibición competitiva de 1-MCP por el etileno y el tratamiento térmico fueron las estrategias más prometedoras, ya que permitieron iniciar el proceso de ablandamiento durante la vida en estante, a la vez que mantuvieron un control efectivo del escaldado superficial en peras “Beurré d’Anjou”. Sin embargo, estas estrategias requieren ciertos ajustes para poder implementarse a nivel comercial.

Para reducir el desarrollo de cavernas durante la conservación en ACD de peras “Beurré d’Anjou”, se evaluó el almacenamiento con mayores valores de O₂ y menores concentraciones de CO₂, así como la combinación de ACD con bajas dosis de 1-MCP. Si bien estas herramientas controlaron el desarrollo de escaldado superficial, ninguna de ellas redujo de manera efectiva la aparición de cavernas, por lo que se debe continuar optimizando las concentraciones de estos gases para su utilización comercial en esta variedad. Por lo tanto, aun no se dispone de una estrategia que permita el control de escaldado superficial, sin afectar otros parámetros de calidad en peras “Beurré d’Anjou”, por lo cual se rechaza la segunda parte de la hipótesis.

BIBLIOGRAFIA

- Abeles, F.B., Morgan, P.W., Saltveit Jr., M.E. 1992. Ethylene in Plant Biology Chapter 6: Fruit Ripening, Abscission and Postharvest Disorders. Academic Press, pp.182-221.
- Ait Barka, E., Kalantari, S., Makhlof, J., Arul, J. 2000. Impact of UVc irradiation on the cell wall-degrading enzymes ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 667-671.
- Albrigo, L.G., Childers, N.F. 1970. Peel flavanols and their relationship to superficial scald in “Stayman” apples. *Journal of American Society of Horticulture Science* 95, 798-800.
- Alwan, T.F., Watkins, C.B. 1999. Intermittent warming effects on superficial scald development of “Cortland”, “Delicious” and “Law Rome” apple fruit. *Postharvest Biology and Technology* 16, 203-212.

- Anet, E.F.L.J. 1972. Superficial scald, a functional disorder of stored apples. IX. Effect of maturity and ventilation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 23, 763-769.
- Argenta, L.C., Fan, X., Mattheis, J.P. 2003. Influence of 1-methylcyclopropene on ripening, storage life, and volatile production by “Beurré d’Anjou” pear fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 3858-3864.
- Awad, M.A., De Jager, A., Van Westing, L.M. 2000. Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterisation of variation. *Scientia Horticulturae* 83, 249-263.
- Bai, J., Mattheis, J.P., Reed, N. 2006. Re-initiating softening ability of 1-methylcyclopropene-treated “Bartlett” and “Beurré d’Anjou” pears after regular air or controlled atmosphere storage. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 81, 959-964.
- Bai, J., Yin, X., Whitaker, B.D., Deschuytter, K., Chen, P.M. 2009. Combination of 1-methylcyclopropene and ethoxyquin to control superficial scald of “Beurré d’Anjou” pears. *HortTechnology* 19, 521-525.
- Barden, C.L., Bramlage, W.J. 1994a. Relationships of antioxidants in apple peel to changes in α -farnesene and conjugated trienes during storage, and to superficial scald development after storage. *Postharvest Biology and Technology* 4, 23-33.
- Barden, C.L., Bramlage, W.J. 1994b. Accumulation of antioxidants in apple peel as related to preharvest factors and superficial scald susceptibility of the fruit. *Journal of American Society of Horticulture Science* 119, 264-269.
- Barden, C.L., Bramlage, W.J. 1994c. Separating the effects of low temperature, ripening, and light on loss of scald susceptibility in apples before harvest. *Journal of American Society of Horticulture Science* 119, 54-58.
- Bauchot, A.D., John, P., Soria Y., Recasens, I. 1995. Sucrose ester-based coating formulated with food-compatible antioxidants in the prevention of superficial scald in stored apple. *Journal of American Society of Horticulture Science* 120, 491-496.
- Benítez C.E., 2001. Cosecha y Poscosecha de Peras y Manzanas en los Valles Irrigados de la Patagonia. Ediciones INTA. 126 pp. ISBN: 987-521-033-1.
- Benítez, C.E., Calvo, G. 2002. Fisiopatías y pérdidas de calidad en manzanas y peras. Ediciones INTA. 92 p. ISBN: 987-521-053-6
- Benítez C. E., Castro H. R., Ricca A. P., Vaudagna S. R. 2005. Peras y Manzanas: Factores que afectan la calidad de los frutos. Buenos Aires. Ediciones INTA. Buenos Aires-Argentina. 396 p.
- Blankenship, S. M., Dole, J. M. 2003. 1-Methylcyclopropene: a review. *Postharvest Biology and Technology* 28, 1-25.
- Bleecker, A.B., Kende, H. 2000. Ethylene: a gaseous signal molecule in plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 16, 1-40.
- Boonykiat, D., Chen, P.M., Spotts, R.A., Richardson, D.G. 1987. Effects of harvest maturity on decay and post-harvest life of “Beurré d’Anjou” pear. *Scientia Horticulturae* 31,131-139.
- Bowler, C.M., Van Montagu, M., Inze, D. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerante. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology* 43, 83-116.
- Bower, J.H., Biasi, W.V., Mitcham, E.J. 2003. Effect of ethylene in the storage environment on quality of “Bartlett” pears. *Postharvest Biology and Technology* 28, 371-379.

- Bramlage, W.J., Drake, M., Baker, J.H. 1974. Relationships of calcium content to respiration and postharvest condition of apples. *Journal of American Society of Horticulture Science* 99, 376-378.
- Bramlage, W.J., Watkins, C.B. 1994. Influences of preharvest temperature and harvest maturity on susceptibility of New Zealand and North American apples to superficial scald. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 22, 69-79.
- Bravo, L. 1998. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews* 56, 317-333.
- Bregoli, A. M., Scaramagli, S., Costa, G., Sabatini, E., Ziosi, V., Biondi, S., Torrigiani, P. 2002. Peach (*Prunus persica*) fruit ripening: aminoethoxyvinylglycine (AVG) and exogenous polyamines affect ethylene emission and flesh firmness. *Physiologia Plantarum* 114, 472-481.
- Brooks, C., Cooley, J.S., Fisher, D.F., 1923. Oiled wrappers, oils and waxes in the control of superficial scald. *Journal of agricultural research* 26, 513-536.
- Calvo, G. 1997. Evaluación del efecto de esteres de sacarosa en la vida post-cosecha de peras y manzanas. X Seminario Latinoamericano y del Caribe de Ciencia y Tecnología de los alimentos. Buenos Aires. Argentina
- Calvo, G. 2002. Efecto del 1-metilciclopropeno (1-MCP) en manzanas cv. Red Delicious cosechadas con tres estados de madurez y conservadas en frío convencional y atmósfera controlada. *RIA* 3, 9-24. Ediciones INTA. Argentina.
- Calvo, G. 2003. Control de escaldadura superficial en peras “Beurré d’Anjou” mediante la aplicación de antioxidantes. General Roca, Río Negro, Argentina. INTA, EEA Alto Valle
- Calvo, G. 2004a. Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on pear maturity and quality. *Acta Horticulturae* 628, 203-211.
- Calvo, G. 2004b. Control de fisiopatías de postcosecha en manzanas “Granny Smith” mediante la aplicación de 1-metilciclopropeno (1-MCP). *RIA* 34, 45-59. INTA. Argentina
- Calvo, G. 2004c. Efecto del 1-metilciclopropeno (1-MCP) en peras cv. Williams cosechadas con dos estados de madurez. *RIA* 33, 3-26. INTA. Argentina.
- Calvo, G., Salvador, M.E. 2000. Evaluación de la eficiencia de antioxidantes de origen natural en el control de escaldadura superficial en manzanas cv. Granny Smith. IIR- Postharvest & Refrigeration Conference: Improving postharvest technologies of fruit and vegetables. Murcia, España.
- Calvo, G., Salvador, M.E.; Sanchez, E.E. 2002. Control of Superficial scald in “Beurré d’Anjou” pears with low oxygen levels. *Acta Horticulturae* 596, 879-882.
- Calvo, G., Sozzi, G.O. 2004. Improvement of postharvest storage quality of “Red Clapp’s” pears by treatment with 1-methylcyclopropene at low temperature. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 79, 930-934
- Calvo, G., Candan, A.P. 2003. Efecto del 1-metilciclopropeno sobre la madurez y control de escaldadura en peras cv. “Beurré d’Anjou” y “Packham’s Triumph”. Resúmenes del 9º Congreso Nacional de Horticultura. Montevideo, Uruguay, del 1 al 3 de abril, 2003. p: 79.
- Calvo, G., Macadam, C. 2005. Interacciones entre el 1-MCP y la conservación en atmósfera controlada en la madurez y calidad de manzanas cv. Red Delicious. Libro de Resúmenes XII Congreso Latinoamericano y XXVIII Congreso de Horticultura, III Jornadas Argentinas de Postcosecha. Pag. 93.
- Calvo, G., Candan, A.P. 2011. Alternativas de control de escaldadura superficial en peras “Beurré d’Anjou”. Informe Técnico INTA Alto Valle, 22 p.

- Calvo, G., Kupferman, E. 2012. Current DPA and ethoxyquin situation and alternatives to superficial scald control in apples and pears. *Acta Horticulturae* 945, 51-54. http://www.actahort.org/books/945/945_5.htm
- Calvo, G., Candan, A.P. 2012. Evaluación de distintos sistemas de almacenamiento para controlar la maduración y el desarrollo de escaldadura superficial en peras “Beurré d’Anjou”. 42 pp. Informe INTA Alto Valle, Rio Negro, Argentina.
- Calvo, G., Candan, A.P. 2014. Strategies to modulate 1-MCP effects in “Packham’s Triumph” pears: simultaneous application with ethylene or CO₂ and temperature treatments. *RIA* 39, 2. INTA. Argentina.
- Calvo, G., Candan, A.P., Civello, M. Giné-Bordonaba, J., Larrigaudière, C. 2015. An insight into the role of fruit maturity at harvest on superficial scald development in “Beurré d’Anjou” pear. *Scientia Horticulturae* 192, 173-179.
- Campanella, L., Bonanni, A., Favero, G., Tomassetti, M. 2003. Determination of antioxidant properties of aromatic herbs, olives and fresh fruit using an enzymatic sensor. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 375, 1011-1016.
- Candan, A.P., Calvo, G. 2002. Uso de 1-MCP en frutas argentinas: manzanas, peras y ciruelas. Proceedings del “Seminario Internacional de Post Cosecha y procesamiento mínimo de frutas y hortalizas”. Embrapa hortalizas, Brasilia, Brasil, 26 al 28 de noviembre, 2002.
- Candan, A.P., Calvo, G. 2008. Evaluación del sistema de Atmósferas Controladas Dinámicas para la conservación de manzanas “Granny Smith” y “Cripp’s Pink”. Informe técnico INTA Alto Valle. 18 pp.
- Candan, A.P., Calvo, G. 2009. Evaluación del sistema de Atmósferas Controladas Dinámicas para la conservación de peras “Williams” y “Beurré d’Anjou”. Informe Técnico INTA Alto Valle, 25 pp.
- Candan, A.P., Calvo, G., Stahl, E. 2010. Almacenamiento de peras “Beurré d’Anjou” en Atmósferas Controladas Dinámicas. Informe Técnico INTA Alto Valle, 19 p.
- Civello, P., Vicente, A., Martínez, G. 2006. UVc technology to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Recent Advances in Alternative Postharvest Technologies to Control Fungal Diseases in Fruits & Vegetables*. Transworld Research Network, 37/661 (2), Fort P.O. Trivandrum-695 023, Kerala, India. 71-102.
- Combrink, J.C., Benic, L.B., Lotz, E., Truter, A.B., 1994. Integrated management of postharvest fruit quality. *Acta Horticulturae* 368, 657- 666.
- Commission Directive 2009/859/EC. 2009. Concerning the non-inclusion of diphenylamine in Annex I to Council Directive 91/414/ECC and the withdrawal of authorizations for plant protection products containing that substance. *Off. J. Eur. Union* 2009, L187:79-80
- Cucchi, A., Regioli, G. 2011. Temperature and ethylene: two useful tools to be used in combination with Smartfresh™ (1-MCP) for delivering optimal quality pears. *Acta Horticulturae* 909, 679-686.
- Chen, P. M., Olsen, K.L., Meheriuk, M. 1985. Effect of low-oxygen atmosphere on storage scald and quality preservation of “Delicious” apples. *Journal of American Society of Horticulture Science* 110, 16-20
- Chen, P.M., Varga, D.M. 1989. Black speck. A superficial disorder of “Beurré d’Anjou” pears after prolonged CA storage. In J.K. Fellman, ed., 5th International Controlled Atmosphere Research Conference, vol 1, Wenatchee, WA, pp. 145- 156.

- Chen, P.M., Varga, D.M., Mielke, E.A., Facticeau, T.J., Drake, S.R. 1990. Control of superficial scald on “Beurré d’Anjou” pears by ethoxyquin: Oxidation of α -farnesene and its inhibition. *Journal of Food Science* 55, 171-175.
- Chen, P.M., Varga, D.M., Mielke, E.A., Facticeau, T.J., Drake, S.R. 1990. Control of superficial scald on “Beurré d’Anjou” pears by ethoxyquin oxidation of α -farnesene and its cultivars during long-term storage. *Food Chemistry* 80, 303-307.
- Chen, P.M., Varga, R.J., Xiao, Y.Q. 1993. Inhibition of α -farnesene biosynthesis and its oxidation in the peel tissue of “Beurré d’Anjou” pears by low-O₂/elevated CO₂ atmospheres. *Postharvest Biology and Technology* 3, 215-223.
- Chen, P.M., Spotts, R.A. 2005. Changes in ripening behaviour of 1-MCP-treated “Beurré d’Anjou” pears after storage. *International Journal of Fruit Science* 5, 3-18.
- Chiriboga, M.A., Schotsmans, W.C., Larrigaudière C., Dupille, E., Recasens, I. 2011. How to prevent ripening blockage in 1-MCP-treated “Conference” pears. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91, 1781-1788
- Chiriboga, M.A., Saladié, M., Giné Bordonaba, J., Recasens, I., Garcia-Mas, J., Larrigaudière, C. 2013. Effect of cold storage and 1-MCP treatment on ethylene perception, signalling and synthesis: Influence on the development of the evergreen behaviour in “Conference” pears. *Postharvest Biology and Technology* 86, 212-220.
- Chiriboga, M.A., Schotsmans, W.C., Larrigaudière, C., Recasens Guinjuan, I. 2014. Últimos avances en la aplicación del 1-metilciclopropeno (1-MCP) en peras. *ITEA* 1, 34-48.
- Chiriboga, M.A., Schotsmans, W., Larrigaudière, C. 2010. Comparative study of techniques to restore the ripening process in 1-MCP treated “Blanquilla” and “Conference” pears. *Acta Horticulturae* 858, 149-154.
- DeLong, J.M., Prange, R.K., Leyte, J.C., Harrison, P.A. 2004. A new technology that determines low-oxygen thresholds in controlled-atmosphere-stored apples. *HortTechnology* 14, 262-266.
- DeLong, J.M., Prange, R.K., Harrison, P.A. 2007. Chlorophyll fluorescence-based low-O₂ CA storage of organic “Cortland” and “Delicious” apples. *Acta Horticulturae* 737, 31-37.
- Diamantidis, G., Thomai, T., Genitsariotis, M., Nanos, G., Bolla, N., Sfakiotakis, E. 2002. Scald susceptibility and biochemical/physiological changes in respect to low preharvest temperature in “Starking Delicious” apple fruit. *Scientia Horticulturae* 92, 361-366.
- Drzyzga, O. 2003. Diphenilamine and derivates in the environment: a review. *Chemosphere* 53, 809-818.
- Du, Z.Y., Bramlage, W.J. 1993. A modified hypothesis on the role of conjugated trienes in superficial scald development on stored apples. *Journal of American Society of Horticulture Science* 118, 807-813.
- Du, Z.Y., Bramlage, W.J., 1994. Roles of ethylene in the development of superficial scald in “Cortland” apples. *Journal of American Society of Horticulture Science* 119, 516-523.
- Duran Torrellardona, S. 1983. Frigoconservación de la fruta. *Biblioteca Agrícola AEDOS*.
- Dussi, M.C., Calvo, G., Veronesi, A. 1998. Efecto del ABG-3168 en la caída de precosecha y madurez de frutos de manzanos cv. Royal Gala, Red Delicious y

- Starkrimson.1998: IX Congreso Latinoamericano de Horticultura-XLIX Congreso Agronómico de Chile. Santiago, Chile.
- Ekman, J.H., Clayton, M., Biasi, W.V., Mitcham, E.J. 2004. Interactions between 1-MCP concentration, treatment interval and storage time for “Bartlett” pears. *Postharvest Biology and Technology* 31, 127-136.
- El-Sharkawy, I., Jones, B., Li, Z., Levrière, J.M., Pech, J.C., Latché, A. 2003. Isolation and characterization of four ethylene perception elements and their expression during ripening in pears (*Pyrus communis* L.) with/without cold requirement. *Journal of Experimental Botany* 54, 1615-1625.
- Emongor, V.E., Murr, D.P., Lougheed, E.C. 1994. Preharvest factors that predispose apples to superficial scald. *Postharvest Biology and Technology* 4, 289-300.
- EU pesticidas database, MRLs of the European Commission. 2008. <http://ec.europa.eu/sancopesticides/public/index.cfm>
- Even-Chen, Z., Matoo, A.K., Goren, R. 1982. Inhibition of ethylene biosynthesis by aminoethoxyvinylglycine and by polyamines shunts label from 3,4 [¹⁴C]-methionine into spermidine in aged orange peel discs. *Plant Physiology* 69, 385-390.
- Fan, X., Blankenship, S.M., Mattheis, J.P. 1999. 1-Methylcyclopropene inhibits apple ripening. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 124, 690-695.
- Fan, X., Mattheis, J.P., Blankenship, S.M. 1999. Development of apple superficial scald, soft scald, core flush and greasiness is reduced by 1- Methylcyclopropene. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 47, 3063-3068.
- Fernandez, D., Calvo, G., Cichón, L., Garrido, S. 2005. Efecto del uso de aceites minerales de verano sobre la fauna de artrópodos de manzanos (*Malus doméstica* Bork) y sus implicancias agronómicas sobre el cultivo, la madurez y la conservación de los frutos. Libro de Resúmenes. Proyecto. XII Congreso Latinoamericano y XXVIII Congreso de Horticultura, III Jornadas Argentinas de Postcosecha. 375
- Filmer, A., Meigh, D. 1971. Natural skin coating of the apple and its influence on scald in storage. IV oxidation Products of alfa-farnesenes. *Journal of Science and Food Agriculture* 22, 188-190.
- Foyer, C.H., Descourvières, P., Kunert, K.J. 1994. Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants. *Plant Cell Environment* 17, 507-523.
- Fuentes, L., Candan, A.P., Calvo, G. 2012. Control de escaldadura superficial en peras “Packham’s Triumph” y manzanas “Granny Smith” mediante métodos físicos. VII Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones. 28 -30 de Noviembre, La Plata, Argentina. ISBN 978-950-34-0926-8
- Fuentes, L. N. 2013. Métodos alternativos al uso de antiescaldantes para el control de escaldadura superficial en peras y manzanas. Tesis de Maestría en Intervención Ambiental. Facultad de ingeniería. Universidad Nacional del Comahue.
- Gallerani, G., Pratella, G.C. 1991. Upgrading peroxide detection to prevent superficial scald of apples by HPLC. *Advances in Horticultural Science* 5, 139-143.
- Gamrasni, D., Ben-Arie, R., Goldway, M. 2010. 1-Methylcyclopropene (1-MCP) application to “Spadona” pears at different stages of ripening to maximize fruit quality after storage. *Postharvest Biology and Technology* 58, 104-112.
- Gapper, N.E., Bai, J.H., Whitaker, B.D. 2006. Inhibition of ethylene-induced α -farnesene synthase gene PcAFS1 expression in “Beurré d’Anjou” pears with 1-

- MCP reduces synthesis and oxidation of α -farnesene and delays development of superficial scald. *Postharvest Biology and Technology* 41, 225-233.
- García-Alonso, M., De Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J.C. 2004. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chemistry* 84, 13-18.
- Ghahramani, F., Scott, K. 1998. Oxygen stress of “Granny Smith” apples in relation to superficial scald, ethanol, α -farnesene, and conjugated trienes. *Australian Journal of Agricultural Research* 49, 207- 210.
- Giné-Bordonaba, J., Matthieu-Hurtiger, V.B., Westercamp, P.C., Coureau, C.D., Dupille, E.E., Larrigaudière, C. 2013. Dynamic changes in conjugated trienols during storage may be employed to predict superficial scald in “Granny Smith” apples. *LWT. Food Science and Technology Research* 54, 535-541.
- Gomila, T., Calvo, G., Candan, A.P. 2011. Relationship between Maturity Index and Ethylene Production Patterns of “Williams” Pears Grown In The Alto Valle Of Rio Negro. *Acta Horticulturae* 909, 745-750.
- Gong Y., Tian, M.S. 1998. Inhibitory effect of diazocyclo-pentadiene on the development of superficial scald in “Granny Smith” apple. *Plant Growth Regulation* 26, 117-121.
- González-Aguilar, G. A., Wang, C. Y., Buta, G. J. 2004. UVc irradiation reduces breakdown and chilling injury of peaches during cold storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84, 415-422.
- Gough, R.E., Shutak, V.G., Olney, C.E., Day, H. 1973. Effect of butylated hydroxytoluene (BHT) on apple scald. *Journal of American Society of Horticulture Science* 98, 14-15.
- Graell, J., Recasens, I. 1992. Effects of ethylene removal on “Starking Delicious” apple quality in controlled atmosphere storage. *Postharvest Biology and Technology* 2, 101-108.
- Graell, J., Ortiz, A. 2003. Recomendaciones para almacenamiento en Atmósfera Controlada. *Horticultura internacional* 172, 38-44.
- Guerra, R., Gardéb, I.V., Antunesc, M.D., Marques da Silva, J., Antunese, R., Cavaco, A.M. 2012. A possibility for non-invasive diagnosis of superficial scald in “Rocha” pear based on chlorophyll a fluorescence colorimetry and the relation between α -farnesene and conjugated trienols. *Scientia Horticulturae* 134,127-138.
- Hagen, S.F., Borge, G.I.A., Bengtsson, G.B., Bilger, W., Berge, A., Haffner, K., Solhaug, K.A. 2007. Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh., cv. Aroma): effect of postharvest UVb irradiation. *Postharvest Biology and Technology* 45, 1-10.
- Hall, E.G., Sykes, S.M., Trout, S.A. 1953. Effects of skin coatings on the behaviour of apples in storage. *Australian journal of agricultural research* 4, 365.
- Hardenburg, R.E. 1967. Hot-water and chemical treatments to control scald on “Stayman” apples. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 90, 484-490
- Hemmaty, S., Moallemi, N., Naseri, L. 2007. Shelf-life and quality of apple fruits in response to postharvest application of UVc radiation. *Journal of Applied Horticulture* 8, 114-116.
- Huelin, F., Coggiola, I.M. 1968. Superficial scald, a functional disorder of stored apples. IV. Effect of variety, maturity, oiled wraps, and diphenylamine on concentration of α - farnesene in the fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 19, 297-301.

- Huelin F., Coggiola, I. 1970a. Superficial scald, a functional disorder of stored apples. V. Oxidation of alfa-farnasene and its inhibition by diphenylamine. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 21, 4-48.
- Huelin, F.E., Coggiola, I.M. 1970b. Superficial scald, a functional disorder of stored apples. VI. Evaporation of α -farnesene from the fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 21, 82-86.
- Ingle M., D'Souza, M.C. 1989. Physiology and control of superficial scald of apples: a review. *Hortscience* 24, 28-31.
- Ingle, M., 2001. Physiology and biochemistry of superficial scald of apples and pears. *Horticultural Reviews*. 27, 227-267. (ed J. Janick), John Wiley & Sons, Inc., Oxford, UK.
- Isidoro, N., Almeida, D.P.F. 2006. α -Farnesene, conjugated trienols, and superficial scald in "Rocha" pear as affected by 1-methylcyclopropene and diphenylamine. *Postharvest Biology and Technology* 42, 49-56.
- Jemric, T., Lurie, S., Dumija, L., Pavicic, N., Hribar, J. 2006. Heat treatment and harvest date interact in their effect on superficial scald of "Granny Smith" apple. *Scientia Horticulturae* 107, 155-163.
- Jiang, Y., Joyce, D.C., Macnish, A.J. 1999. Responses of banana fruit to treatment with 1-methylcyclopropene. *Plant Growth Regulators* 28, 77-82.
- Joyce, D.C., Macnish, A.J., Hofman, P.J., Simons, D.H., Reid, M.S. 1999. Use of 1-methylcyclopropene to modulate banana ripening. p.189-190. In: A.K. Kanellis, C. Chang, H. Klee, A.B. Bleeker, J.C. Pech and D. Grierson (eds.), *Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene II*, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- Ju, Z.G., Curry, E.A. 2000a. Evidence that α -farnesene biosynthesis during fruit ripening is mediated by ethylene regulated gene expression in apples. *Postharvest Biology and Technology* 19, 9-16.
- Ju, Z.G., Curry, E.A. 2000b. Stripped corn oil controls scald and maintains volatile production potential in "Golden Supreme" and "Delicious" apples. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 48, 2173-2177.
- Ju, Z.G., Curry, E.A., 2000c. Stripped corn oil emulsion alters ripening, reduces superficial scald, and reduces core flush in "Granny Smith" apples and decay in "Beurré d'Anjou" pears. *Postharvest Biology and Technology* 20, 185-193.
- Ju, Z.G., Duan, Y., Ju, Z. 2000. Mono-, di-, and tri-acylglycerols and phospholipids from plant oils inhibit scald development in "Delicious" apples. *Postharvest Biology and Technology* 19, 1-7.
- Kader, A.A. 1985. Ethylene-induced senescence and physiological disorders in harvested horticultural crops. *HortScience* 20, 54-57.
- Kader, A.A. 1992. *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. Second edition, University of California, Division of Agricultural and Nature Resources, Publ. 3311, pp. 296.
- Kakkar, R.K., Rai, V.K. 1993. Plant polyamines in flowering and fruit ripening. *Phytochemistry* 33, 1281-1288.
- Kappel, F., Fisher-Fleming, R., Hogue, E. 1995. Ideal Pear Sensory Attributes and Fruit Characteristics. *Hort Science* 30, 988-993.
- Kerbel, E., Mitchell, F.G., Kader, A.A., Mayer, G. 1989. Effect of Semperfresh coating on postharvest life, internal atmosphere modification and quality maintenance of "Granny Smith" apples. *Journal of Horticultural Science*, 247-254.
- Khan, A.S., Singh, Z., Abbasi, N.A., Swinny, E.E. 2008. Pre or post-harvest applications of putrescine and low temperature storage affect fruit ripening and

- quality of “Angelino” plum. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88, 1686-1695.
- Klein, J.D., Lurie, S., Ben-Arie, R. 1990. Quality and cell-wall components of “Anna” and “Granny Smith” apples treated with heat, calcium, and ethylene. *Journal of American Society of Horticulture Science* 115, 954-958.
- Knee, M., Hatfield, S.G.S. 1981. Benefits of ethylene removal during apple storage. *Annals of Applied Biology* 98, 157-165.
- Kramer, G.F., Wang, C.Y. 1990. Effects of chilling and temperature preconditioning on the activity of polyamines biosynthetic enzymes. *Journal of Plant Physiology* 136, 115-119.
- Kramer, G. F., Wang, C.Y., Conway, W.S. 1991. Inhibition of softening by polyamine application in “Golden Delicious” and “McIntosh” apples. *Journal of American Society of Horticulture Science* 116, 813-817.
- Larrigaudière, C., Vilaplana, R., Soria, Y., Recasens, I. 2004. Oxidative behaviour of “Blanquilla” pears treated with 1-methylcyclopropene during cold storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84, 1871-1877.
- Lau, O.L., 1990. Efficacy of diphenylamine, ultra-low oxygen, and ethylene scrubbing on scald control in “Delicious” apples. *Journal of American Society of Horticulture Science* 115, 959-961.
- Lau, O.L., 1997b. Initial low oxygen stress offers no scald control benefits to “Starkrimson Delicious” apples in 0.7 kPa O₂ storage. *HortScience* 32, 1239-1241.
- Lelièvre, J.M., Tichit, L., Dao, P., Fillion, L., Nam, Y.W., Pech, J.C., Latché, A. 1997. Effects of chilling on the expression of ethylene biosynthetic genes in “Passe-Crassane” pear (*Pyrus communis* L.) fruits. *Plant Molecular Biology* 33, 847-55.
- Leontowicz, M., Gorinstein, S., Leontowicz, H., Krzeminski, R., Lojek, A., Katrich, E., Cíz, M., Martin-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R., Haruenkit, R., Trakhtenberg, S. 2003. Apple and pear peel and pulp and their influence on plasma lipids and antioxidant potentials in rats fed cholesterol-containing diets. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 51, 5780-5785.
- Li, Z.Q., Wang, L.J. 2009. Effect of 1-methylcyclopropene on ripening and superficial scald of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai, cv. Akemizu) fruit at two temperatures. *Food Science and Technology Research* 15, 483-490.
- Little, C.R., Peggie, I.D. 1987. Storage injury of pome fruit caused by stress levels of oxygen, carbon dioxide, temperature, and ethylene. *HortScience* 22, 783-790.
- Little, C.R., Holmes, R.J. 2000. In: Faragher, J.D. (Ed.), *Storage Technology for Apples and Pears: A Guide to Production, Postharvest Treatment and Storage of Pome Fruit in Australia*, 528 pp.
- Lotz, E., Combrink, J. 1993. Alternative antioxidants for control of superficial scald. *Washington State University Tree Fruit Postharvest Journal* 4, 33-34.
- Lotz, E., Barnard, F., Combrink, J. 1997. Evaluation of alternative treatments for the control of superficial scald in apples. *Deciduous Fruit Grower* 47, 445-449.
- Lu, J.Y., Stevens, C., Khan, V.A., Kabwe, M., Wilson, C.L. 1991. The effect of ultraviolet irradiation on shelf-life and ripening of peaches and apples. *Journal of Food Quality* 14, 299-305
- Lu, X., Liu, X.H., Lia, S., Wang, X., Zhang, L. 2011. Possible mechanisms of warming effects for amelioration of superficial scald development on “Fuji” apples. *Postharvest Biology and Technology* 62, 43-49.
- Lu, X., Liu, X.H., Cai, L.Y. 2011. Effects and mechanism of chitosan coatings in the control of superficial scald in apples. *Nongye Jixie Xuebao* 42, 131-135.

- Lurie, S. 1998. Postharvest heat treatments. *Postharvest Biology and Technology* 14, 257-269.
- Lurie, S. 2005. Heat treatments to reduce superficial scald and chilling injury. In: *New Environmentally Friendly Technologies to Prevent Spoilage and Maintain Quality of Agricultural Produce* (S. Ben-Yehoshua, ed.) CRC Press, Boca Raton, Fla., USA, pp. 43-61.
- Lurie, S., Maier, S., Ben-Arie, R. 1987. Superficial scald on “Granny Smith” apples: The effect of preharvest ethephon sprays. *Alon Hanotea* 42, 53-57.
- Lurie, S., Klein, J., Ben-Arie, R. 1989. Physiological changes in diphenylamine treated “Granny Smith” apples. *Israel Journal of Botany* 38, 199-207.
- Lurie, S., Klein, J.D. 1990. Heat treatment of ripening apples: differential effects on physiology and biochemistry. *Physiologia Plantarum* 8, 181-186.
- Lurie, S., Klein, J.D., Ben-Arie, R. 1990. Postharvest heat treatment as a possible means of reducing superficial scald of apples. *Journal of Horticultural Science* 65, 503-509.
- Lurie, S., Lers, A., Shacham, Z., Sonogo, L., Burd, S., Whitaker, B. 2005. Expression of α -farnesene synthase AFS1 and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase HMG2 and HMG3 in relation to α -farnesene and conjugated trienols in “Granny Smith” apples heat or 1-MCP treated to prevent superficial scald. *Journal of American Society of Horticultural Science* 130, 232-236.
- Lurie, S., Watkins, C. B. 2012. Superficial scald, its etiology and control, *Postharvest Biology and Technology* 65, 44-60.
- Ma, S.S., Chen, P.M., Varga, D.M., Drake, S.R., 2000. Ethylene capsule promotes early ripening of “Beurré d’Anjou” pears packed in modified atmosphere bags. *Journal of Food Quality* 3, 245-260.
- MacLean, D.D., Murr, D.P., DeEll, J.R. 2003. A modified total oxyradical scavenging capacity assay for antioxidants in plant tissues. *Postharvest Biology and Technology* 29, 183-194.
- Macnish, A.J., Mitcham, E.J., Holcroft, D.M. 2012. Endogenous and Exogenous Ethylene Modulates the Response of “Bartlett” Pears to 1-Methylcyclopropene. *Acta Horticulturae* 945, 309-316.
- Malik, A.U., Singh, Z. 2005. Pre-storage application of polyamines improves shelf-life and fruit quality of mango. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 80, 363-369.
- Manríquez, D., Defilippi, B.G. 2011. Strategies for applying 1-MCP in “Packham’s Triumph” pears. *Acta Horticulturae* 909, 699-703.
- Martínez-Romero, D., Serrano, M., Carbonell, A., Burgos, L., Riquelme, F., Valero, D. 2002. Effects of postharvest putrescine treatment on extending shelf life and reducing mechanical damage in apricot. *Journal of Food Science* 67, 1706-1712.
- Martínez-Solano, J. R., Sánchez-Bel, P., Egea, I., Olmos, E., Hellin, E., Romojaro, F. 2005. Electron beam ionization induced oxidative enzymatic activities in pepper (*Capsicum annuum* L.), associated with ultrastructural cellular damages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 5893-5899.
- Mattheis, J.P., Rudell, D. 2011. Responses of “Beurré d’Anjou” pear (*Pyrus communis* L.) fruit to storage at low oxygen set points determined by monitoring fruit chlorophyll fluorescence. *Postharvest Biology and Technology* 60, 125-129.
- McGlasson, W.B. 1985. Ethylene and fruit ripening. *HortScience* 20, 51-54.
- Meheriuk, M., Lau, O. L. 1988. Effect of Two Polymeric Coatings on Fruit Quality of “Bartlett” and “Beurré d’Anjou” pears. *Journal of American Society of Horticultural Science* 113, 222-226.

- Meigh, D.F. 1970. Apple scald. In: Hulme, A.C. (Ed.). *The Biochemistry of Fruits and their Products*. Academic Press, London, pp. 556-569.
- Meir, S., Bramlage, W.J. 1988. Antioxidant activity in "Cortland" apple peel and susceptibility to superficial scald after storage. *Journal of American Society of Horticulture Science* 113, 412-418.
- Mellenthin, W.M., Chen, P.M., Kelly, S.B. 1980. Low oxygen effects on dessert quality, scald prevention and nitrogen metabolism of "Beurré d'Anjou" pear fruit during long term storage. *Journal of American Society of Horticulture Science* 105, 695-698.
- Mir, N., Beaudry, R.M. 1999. Effect of superficial scald suppression by diphenylamine application on volatile aroma biosynthesis. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 47, 7-11.
- Mir, N., Perez, R., Beaudry, R.M. 1999. A poststorage burst of 6-methyl-5-hepten-2-one (MHO) may be related to superficial scald development in "Cortland" apples. *Journal of American Society of Horticulture Science* 124, 173-176.
- Mir, N., Perez, R., Schwallier, P., Beaudry, R. 1999. Relationship between ethylene response manipulation and volatile production in Jonagold variety apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 2653-2659.
- Misra K., Seshadri, T. R. 1967. Chemical components of the fruits of *Psidium uava*. *Phytochemistry* 7, 641-645.
- Mitcham, E.J., Mattheis, J.P., Bower, J., Biasil, B., Clayton, M. 2001. Responses of european pears to 1-MCP. *Perishables Handling* 108, 16-19.
- Morice, I.M., Shorland, F.B. 1973. Composition of the surface waxes of apple fruits and changes during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 24, 1331-1339.
- Murray, K.E., Huelin, F.E., Davenport, J.B. 1964. Occurrence of α -farnesene in the natural coating of apples. *Nature* 204, 80.
- Napolitano, A., Cascone, A., Graziani, G., Ferracane, R., Scalfi, L., Di Vaio, C., Ritieni, A., Fogliano, V. 2004. Influence of variety and storage on the polyphenol composition of apple flesh. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 6526-6531.
- Neuwald, D.A., Streif J., Kitemann D. 2015. Effects of 1-MCP treatment in combination with ethylene on storage behaviour and fruit ripening of "Conference" pears. *Acta horticulturae* 1079, 459.
- Nigro, F., Ippolito, A., Lima, G. 1998. Use of UVc light to reduce Botrytis storage rot of table grapes. *Postharvest Biology and Technology* 13, 171-181.
- Pang, X. M., Zhang, Z. Y., Wen, X. P., Ban, Y., Moriguchi, T. 2007. Polyamines, All-Purpose Players in Response to Environmental Stresses in Plants. *Plant Stress*: 173-188. [http://www.globalsciencebooks.info/JournalsSup/images/0712/PS_1\(2\)173-188o.pdf](http://www.globalsciencebooks.info/JournalsSup/images/0712/PS_1(2)173-188o.pdf)
- Paull R.E. 1990. Postharvest heat treatments and fruit ripening. *Postharvest News and Information* 1, 355-361.
- Pechous, S.W., Watkins, C., Whitaker, B.D. 2005. Expression of α -farnesene synthase gene AFS1 in relation to levels of α -farnesene and conjugated trienols in peel tissue of scald susceptible "Law Rome" and scald-resistant "Idared" apple fruit. *Postharvest Biology and Technology* 35, 125-132.
- Perez-Vicente, A. D., Martínez-Romero, A., Carbonell, M., Serrano, F., Riquelme, F., Guillen, M. 2002. Role of polyamines in extending shelf life and the reduction

- of mechanical damage during plum (*Prunus salicina* Lindl.) storage. *Postharvest Biology and Technology* 25, 25-32.
- Pesis, E., 2005. The role of the anaerobic metabolites, acetaldehyde and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit quality and fruit deterioration. *Postharvest Biology and Technology* 37, 1-19.
- Pesis, E., Ben-Arie, R., Feygenberg, O., Lichter, A., Gadiyeva, O., Antilofyev, I., Uryupina, T. 2007. A simple pretreatment with low O₂ to alleviate superficial scald in “Granny Smith” apples. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87, 1836-1844.
- Pesis, E., Ibanez, A.M., Phu, M.L., Mitcham, E.J., Ebeler, S.E., Dandekar, A.M., 2009. Superficial scald and bitter pit development in cold-stored transgenic apples suppressed for ethylene biosynthesis. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 57, 2786-2792.
- Petkou, I. T., Pritsa, T. S., Sfakiotakis, E. M. 2004. Effects of polyamines on ethylene production, respiration and ripening of kiwifruit. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 79, 977-980.
- Pinhero, R.G., Rao, M.V., Paliyath, G., Murr, D.P. Fletcher, R.A. 1997. Changes in activities of antioxidant enzymes and their relationship to genetic and paclobutrazol-induced chilling tolerance of maize seedlings. *Plant Physiology* 114, 695-704.
- Powell, G.H., Fulton, S.H. 1903. The apple in cold storage. *Bul. U. S. Dept. Agr.* 48
- Prange, R.K., DeLong, J.M., Harrison, P.A. 2005. Quality management through respiration control: Is there a relationship between lowest acceptable respiration, chlorophyll fluorescence and cytoplasmic acidosis? *Acta Horticulturae* 682, 823-830.
- Prange, R.K., J.M. DeLong, Harrison. P.A. 2003. Oxygen concentration affects chlorophyll fluorescence in chlorophyll containing fruits and vegetables. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 128, 603-607.
- Purvis, A.C., Shewfelt, R.L., Gegogine, J.W. 1995. Superoxide production by mitochondria isolated from green bell pepper fruit. *Physiologia Plantarum* 94, 743-749.
- Purvis, A.C., Gegogine, J.W., 2003. Diphenylamine inhibits respiration of green bell peppers. *Journal of American Society of Horticulture Science* 128, 924-929.
- Raese, J.T., Drake, S.R., 2000. Effect of calcium sprays, time of harvest, cold storage, and ripeness on fruit quality of “Beurré d’Anjou” pears. *Journal of Plant Nutrition* 23, 843-853.
- Rao, M.V., Watkins, C.B., Brown, S.K., Weeden, N.F. 1998. Active oxygen species metabolism in “White Angel” x “Rome Beauty” apple selections resistant and susceptible to superficial scald. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 123, 299-304.
- Rowan, D.D., Hunt, M.B., Fielder, S., Norris, J., Sherbun, M.S. 2001. Conjugated trienes oxidation products of α -farnesene induce symptoms of superficial scald on stored apples. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 49, 2780-2787.
- Rudell, D.R., Mattheis, J.P., Fellman, J.K. 2005. Relationship of superficial scald development and α -farnesene oxidation to reactions of diphenylamine and diphenylamine derivatives in cv. Granny Smith apple peel. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 53, 8382-8389.
- Rudell, D.R., Mattheis, J.P., Curry, E.A. 2008. Prestorage ultraviolet-white irradiation alters apple peel metabolome. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 1138-1147.

- Rudell, D. R., Mattheis, J. R. 2009. Superficial scald development and related metabolism is modified by postharvest light irradiation. *Postharvest Biology and Technology* 51, 174-182.
- Rupasinghe, H.P.V., Almquist, K.C., Paliyath, G., Murr, D.P. 2001. Cloning of hmg1 and hmg2 cDNAs encoding 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase and their expression and activity in relation to α -farnesene synthesis in apple. *Plant Physiology and Biochemistry* 39, 933-947.
- Sabban-Amin, R., Feygenberg, O., Belausovb, E., Pesis, E. 2011. Low oxygen and 1-MCP treatments delay superficial scald development by reducing reactive oxygen species (ROS) accumulation in stored "Granny Smith" apples. *Postharvest Biology and Technology* 62, 293-304.
- Saltveit, M.E. 1999. Effect of ethylene on quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 15, 279-292.
- Salunkhe, D.K., Desai, B.B., 1984. *Postharvest Biotechnology of Fruits*, Vol. 2. CRC Press, Boca Raton FL.
- Sanchez, E. E., Villarreal, P. 2013. Cadena Frutales de Pepita. Programa Nacional Frutales. Estación Experimental Alto Valle. http://inta.gob.ar/documentos/cadena-frutales-pepita/at_multi_download/file/INTA_Programa%20Nacional%20Frutales_Cadena%20frutales%20de%20pepita.pdf
- Sangiaco, M.A., Calvo, G. 1995. Estudio de alternativas de control de escaldadura superficial. INTA, EEA Alto Valle (RN). XVIII Congreso Argentino de Horticultura. ASAHO, Termas de Río Hondo, Sgo.del Estero.
- Scott, K. J., Yuen, C. M. C., Kim, G. H. 1995. Reduction of superficial scald of apples with vegetable oils. *Postharvest Biology and Technology* 6, 219-223.
- Scott, K.J., Yuen, C.M.C., Ghahramani, F., 1995a. Ethanol vapor- a new anti-scald treatment for apples. *Postharvest Biology and Technology* 6, 201-208.
- Schmitz-Eiberger, M., Weber, V., Treutter, D., Baab, G., Lorenz, J. 2003. Bioactive components in fruits from different apple varieties. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 77, 167-171.
- Serrano, M., Martínez-Madrid, M.C., Martínez, G., Riquelme, F., Petrel, M.T., Romojaro, F. 1996. Review: role of polyamines in chilling injury of fruit and vegetables. *Food Science and Technology International* 2, 195-199.
- Serrano, M.; Martínez-Romero, D.; Guillén, F.; Valero, D. 2003. Effects of exogenous putrescine on improving shelf life of four plum cultivars. *Postharvest Biology and Technology* 30, 259-271.
- Shaham, Z., Lers, A., Lurie. S. 2003. Effect of heat or 1-MCP on antioxidative enzyme activities and antioxidants in apples in relation to superficial scald development. *Journal of American Society of Horticulture Science* 128, 761-766.
- Shutak, V.G., Christopher, E.P. 1953. Effects of mineral oil on storage scald of apples. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 61, 233-236.
- Silva, F.J.P., Gomes, M.H., Fidalgo, F., Rodrigues, J.A., Almeida, D.P., 2010. Antioxidant properties and fruit quality during long-term storage of "Rocha" pear: effects of maturity and storage conditions. *Journal of Food Quality* 33, 1-20.
- Sisler, E.C. 1979. Measurement of ethylene binding in plant tissue. *Plant Physiology* 64, 538.
- Soria, Y., Recasesns, I. 1997. El escaldado superficial de la manzana. Separata ITEA. Información técnica económica agraria 93, 49-64.
- Sozzi, G.O. 2007. Tecnología de postcosecha de frutos de especies leñosas, pp. 769-805. En: Sozzi, G.O. (Ed.), *Árboles Frutales: Ecofisiología, Cultivo y*

- Aprovechamiento. Editorial Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina, 805 p. ISBN 950-29-0974-7.
- Sozzi, G. O., Beaudry, R.M. 2007. Current perspectives on the use of 1-methylcyclopropene in tree fruit crops: an international survey. *Stewart Postharvest Review* 2, 1-16.
- Stevens, C., Lui, J., Khan, V., Lu, J., Kabwe, M., Wilson, C., Igwegbe, E., Chalutz, E., Droby, S. 2004. The effects of low-dose ultraviolet light-C treatment on polygalacturonase activity, delay ripening and *Rhizopus* soft rot development of tomatoes. *Crop Protection* 23, 551-554.
- Tabor, C.W., Tabor, H. 1984. Polyamines. *Annual Review of Biochemistry* 53, 49-90.
- Thomai, T., Sfakiotakis, E., Diamantidis, G.R., Vasilakakis, M. 1998. Effects of low temperature on scald susceptibility and biochemical changes in "Granny Smith" apple peel. *Scientia Horticulturae* 76, 1-15.
- Tiller, L.W. 1929. Cold storage of fruit. *Bull. N. Z. Dept. Sci. Ind. Res.* 16, 13 pp.
- Tindale, G.B. 1967. Scald Inhibitors for Apples, 68. *Fruit World Market Grower*, pp.28.
- Trincherro, G.D., Sozzi, G.O., Covatta, F., Fraschina, A.A. 2004. Inhibition of ethylene action by 1-methylcyclopropene extends postharvest life of "Bartlett" pears. *Postharvest Biology and Technology* 32, 193-204.
- Ullah Malik A., Singh, Z., Sattar Khan, A. 2005. Role of Polyamines in Fruit Development, Ripening, Chilling injury, storage and quality of mango and other fruits: a review. *Proceedings: International Conference on Mango and Date Palm: Culture and Export*, 182-187 pp. Malik et al. (Eds), University of Agriculture, Faisalabad
- Valenciano, J., Giancinti, M.A., Uribe, J. 2012. Revealed Comparative Advantage and Competitiveness in Pear. *International Journal on Food System Dynamics* 3, 1-10.
- Valero, D., Martínez-Romero, D., Serrano, M. 2002. The role of polyamines in the improvement of shelf life of fruit. *Trends in Food Science & Technology* 13, 228-234.
- Van der Merwe, J., Combrink, J., Truter, A., Calitz, F. 1997. Effect of initial low oxygen stress treatment and controlled atmosphere storage at increased carbon dioxide levels on post storage quality of south african-grown "Granny Smith" and Top Red apples. In: *Controlled Atmosphere Research Conference* 8 p.p.
- Vilaplana, R., Valentines, M. C., Toivonen, P., Larrigaudière, C. 2006. Antioxidant potential and peroxidative state of "Golden Smoothie" apples treated with 1-methylcyclopropene. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 131, 104-109.
- Villalobos-Acuña, M.; Mitcham, E. J. 2008 Ripening of European pears: The chilling dilemma. *Postharvest Biology and Technology* 49, 187-200.
- Villalobos-Acuña, M.G., Biasi, W.V., Mitcham, E.J., Holcroft, D. 2011. Fruit temperature and ethylene modulate 1-MCP response in "Bartlett" pears. *Postharvest Biology and Technology* 60, 17-23.
- Vioque, B., Castellano, J.M. 1998. In vivo and in vitro 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase activity in pear fruit: role of ascorbate and inactivation during catalysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 1706-1711.
- Wang, Z., Dilley, D.R. 1999. Control of superficial scald of apples by low-oxygen atmospheres. *Hortscience* 34, 1145-1151.
- Wang, Z., Dilley, D.R. 2000. Initial low oxygen stress controls superficial scald of apples. *Postharvest Biology and Technology* 18, 201-213.

- Watkins, C.B. 1993. Preharvest factors affecting superficial scald. *Washington State University Tree Fruit Postharvest Journal* 4, 16-20.
- Watkins, C.B., Harman, J.E., Hopkirk, G. 1988. Effects of lecithin, calcium, and antioxidant formulations on superficial scald and internal breakdown of “Granny Smith” apples. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 16, 55-61.
- Watkins, C.B., Bramlage, W.J., Cregoe, B.A. 1995. Superficial scald of “Granny Smith” apples is expressed as a typical chilling injury. *Journal of American Society for Horticultural Science* 120, 88-94.
- Watkins, C.B., Nock, J.F., Whitaker, B.D. 2000. Responses of early, mid and late season apple cultivars to postharvest application of 1-methylcyclopropene (1-MCP) under air and controlled atmosphere storage conditions. *Postharvest Biology and Technology* 19, 17-32.
- Watkins, C.B., Gapper, N.E., Nock, J.F., Giovannoni, J.J., Rudell, D.A., Leisso, R., Lee, J., Buchanan, D., Mattheis, J., Hertog, M.L.A.T.M., Nicolai, B.M., Johnston, J., Schaffer, R. 2015. Interactions between 1-MCP and controlled atmospheres on quality and storage disorders of fruits and vegetables. *Acta Horticulturae* 1071, 45-58.
- Watkins, C.B., Miller, W.B. 2005. 1-Methylcyclopropene (1-MCP) based technologies for storage and shelf life extension. *Acta Horticulturae* 687, 217-224.
- Whitaker, B., J. Nock, C. Watkins. 2000. Peel tissue α -farnesene and conjugated trienol concentrations during storage of “White Angel” x “Rome Beauty” hybrid apple selections susceptible and resistant to superficial scald. *Postharvest Biology and Technology* 20, 231-241.
- Whitaker, B.D., Villalobos-Acuña, M., Mitcham, E.J, Mattheis, J.P. 2009. Superficial scald susceptibility and α -farnesene metabolism in “Bartlett” pears grown in California and Washington. *Postharvest Biology and Technology* 53, 43-50.
- Whitaker, B., Solomos, T. 1997. Scald prevention and reduction of α -farnesene synthesis and oxidation in “Granny Smith” and “Empire” apples. In: *Controlled Atmosphere Research Conference* p.p. 10.
- Whitaker, B. D., Solomos, T., Harrison, D. J. 1997. Quantification of α -farnesene and its conjugated trienol oxidation products from apple peel by C-18-HPLC with UV detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45, 760-765.
- Whitaker, B.D. 2000. DPA treatment alters α -farnesene metabolism in peel of “Empire” apples stored in air or 1.5% O₂ atmosphere. *Postharvest Biology and Technology* 18, 91-97.
- Whitaker, B.D. 2004. Oxidative stress and apple scald. *Hortscience* 39, 924-929.
- Whitaker, B.D., 2007. Oxidation products of α -farnesene associated with superficial scald development in “Beurré d’Anjou” pear fruits are conjugated trienols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 3708-3712.
- Whitaker, B.D., Villalobos-Acuña, M., Mitcham, E.J., Mattheis, J.P. 2009. Superficial scald susceptibility and α -farnesene metabolism in “Bartlett” pears grown in California and Washington’, *Postharvest Biology and Technology* 53, 43-50.
- World Apple and Pear Association Report. 2015. http://www.wapa-association.org/asp/page_1.asp?doc_id=446.
- Xie, X., Zhao, J., Wanga, Y. 2016. Initiation of ripening capacity in 1-MCP treated green and red “d’Anjou” pears and associated expression of genes related to ethylene biosynthesis and perception following cold storage and post-storage ethylene conditioning. *Postharvest Biology and Technology* 111, 140-149.

- Xie, X., Song, J., Wang, Y., Sugar, D. 2014. Ethylene synthesis, ripening capacity, and superficial scald inhibition in 1-MCP treated “Beurré d’Anjou” pears are affected by storage temperature. *Postharvest Biology and Technology* 97, 1-10.
- Yazdzdani, N., Arzani, K., Mostofi, Y., Shekarchi, M., 2011. α -Farnesene and antioxidative enzyme systems in Asian pear (*Pyrus serotina* Rehd.) fruit. *Postharvest Biology and Technology* 59, 227-231.
- Zanella, A. 2003. Control of apple superficial scald and ripening—a comparison between 1-methylcyclopropene and diphenylamine postharvest treatments, initial low oxygen stress and ultra low oxygen storage. *Postharvest Biology and Technology* 27, 69-78.
- Zanella, A., Cazzanelli, P., Panarese, A., Coser, M., Cecchinell, M., Rossi, O. 2005. Fruit fluorescence response to low oxygen stress: modern storage technologies compared to 1-MCP treatment of apple. *Acta Horticulturae* 682, 1535-1542.
- Zhang, Z., Huber, D.J., Hurr, B.M., Rao, J. 2009. Delay of tomato fruit ripening in response to 1-methylcyclopropene is influenced by internal ethylene levels. *Postharvest Biology and Technology* 54, 1-8.
- Ziozi, V., Noferini, M., Fiori, G., Tadiello, A., Trainotti, G., Casadoro, G.; Costa, G. 2008. A new index based on vis spectroscopy to characterize the progression of ripening in peach fruit. *Postharvest Biology and Technology* 49, 319-329.
- Zoffoli, J.P., Richardson, D., Chen, P.M. 1995. Principales antecedentes orientados al manejo integrado del desorden fisiológico escaldadura de manzanas y peras. *Revista Frutícola* 16, 89-95.
- Zoffoli, J.P., Richardson, D., Chen, P., Sugar, D. 1998. Spectrophotometric characterization of superficial and senescent scald in pear fruits relative to different stages of maturity. *Acta Horticulturae* 475, 543-558.
- Zubini, P., Baraldi, E., De Santis, A., Bertolini, P., Mari, M. 2007. Expression of anti-oxidant enzyme genes in scald-resistant “Belfort” and scald-susceptible “Granny Smith” apples during cold storage. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 82, 149-155.