

Universitat de Lleida

# Mantenimiento de la calidad postcosecha y mejora del almacenamiento frigorífico de ciruelas japonesas mediante la aplicación de tratamientos con 1-metilciclopropeno

**Ana Paula Candan**

---

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tesisenred.net](http://www.tesisenred.net)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

---



Mantenimiento de la calidad postcosecha  
y mejora del almacenamiento frigorífico  
de ciruelas japonesas mediante la aplicación  
de tratamientos con 1-metilciclopropeno

Tesis Doctoral **Ana Paula Candan**

Directores:

Dr. Christian Larrigaudière

Dr. Jordi Graell







Universitat de Lleida  
Escola Tècnica Superior  
d'Enginyeria Agrària

Mantenimiento de la calidad postcosecha  
y mejora del almacenamiento frigorífico  
de ciruelas japonesas mediante la aplicación  
de tratamientos con 1-metilciclopropeno

Memoria presentada por:

**Ana Paula Candan**

Para optar al grado de Doctora en Ingeniería Agronómica

Directores:

**Dr. Christian Larrigaudière y Dr. Jordi Graell**

Tutor:

**Dr. Jordi Graell**

Lleida, abril 2010





---

La presente memoria, titulada 'Mantenimiento de la calidad postcosecha y mejora del almacenamiento frigorífico de ciruelas japonesas mediante la aplicación de tratamientos con 1-metilciclopropeno' es presentada por Ana Paula Candan, estudiante del departamento de Tecnología de los Alimentos de la Universitat de Lleida, para optar al grado de Doctora. El trabajo experimental de esta tesis fue realizado en el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Alto Valle, Río Negro (Argentina) bajo la dirección del Dr. Christian Larrigaudière y el Dr. Jordi Graell y con la tutoría del Dr. Jordi Graell, quienes consideran que esta memoria reúne las condiciones necesarias para su defensa.

---

Dr. Christian Larrigaudière  
Co-Director de Tesis

Dr. Jordi Graell  
Co-Director de tesis - Tutor académico

Ing. Ana Paula Candan  
Doctoranda

Lleida, abril 2010



*A mis papás, por cuidarme y amarme siempre. Los quiero muchísimo!*

*A mi hermana y amiga de siempre: Flor, con ella se fue una parte de mi vida.*

*A su esposo Sergio y a sus peques, Maru y Juan, que son mi alegría!*

*A Julio, mi amor.*





---

## AGRADECIMIENTOS

---

A mis directores, Christian y Jordi, por su guía constante, por haber enriquecido mi trabajo, por tenerme paciencia y por hacer las distancias mas cortas.

A Gaby, mi amiga y compañera de trabajo, por alentarme cada día y aún más en los momentos difíciles. Sos la co-autora emocional de esta tesis!

A Eduardo, a Sonia y a Giselle, porque sin su ayuda en el laboratorio no hubiera podido empezar ni terminar esta tesis.

A la Provincia de Neuquén y al INTA. Por confiar en mí financiando estos estudios y a las empresas que colaboraron con este proyecto, principalmente a Rhom & Hass Company.

A quienes extrañé cada vez que me fui a Lleida. Mi familia. Mi novio. Mis amigos. Sus cartas, sus llamados, sus mails, sus conversaciones por chat, hicieron las cosas más fáciles.

A quienes extrañé cada vez que volví a Argentina. Rosa y Neus, mis grandes amigas catalanas, un maravilloso regalo que me dió este Doctorado! A los padres de mis amigas, Rosa y José, Concha y Joan, porque cuando estuve lejos de mi familia encontré dos en Lleida. En especial a Concha por las charlas en el sillón de la sala de TV y a Joan por el café con hielo.

A las chicas del laboratorio del IRTA que estuvieron antes y a las que están hoy, por su compañía y por su colaboración con mis trabajos. A Wendy, por compartir conmigo desinteresadamente muchos .pdf que hoy están en la lista de referencias y por sus aportes en las correcciones de los trabajos científicos.

Sin el apoyo de todos y cada uno de ellos, no hubiera podido terminar este Doctorado...

...infinitamente GRACIAS!



---

## RESUMEN

---

El almacenamiento frigorífico prolongado de ciruelas frescas es una práctica habitual en la región productora del Alto Valle de Río Negro y Neuquén (Argentina) que permite tanto extender el periodo de venta en el mercado interno o hacia países limítrofes, como también posibilitar la exportación vía marítima hacia países del Hemisferio Norte. Debido a que la vida postcosecha de las ciruelas se ve limitada por el excesivo ablandamiento y el desarrollo de daños por frío, el objetivo primordial de la presente tesis fue mantener la calidad y mejorar el almacenamiento frigorífico de los frutos de esta especie mediante la aplicación de tratamientos con 1-metilciclopropeno (1-MCP).

Los resultados obtenidos permitieron comprobar que la aplicación de 1-MCP reduce la producción de etileno y en consecuencia retrasa la maduración postcosecha en ciruelas climatéricas. Los frutos tratados presentaron una reducción del ablandamiento de la pulpa, de la pérdida de acidez y de los cambios en el color de la epidermis y de la pulpa. El efecto del 1-MCP sobre la maduración en ciruelas climatéricas fue independiente de la dosis aplicada y se redujo a medida que se incrementó la capacidad de los frutos de producir etileno. De esta forma, el efecto fue menor cuando se prolongó la vida comercial a 20°C, en frutos de cosechas tardías, en frutos almacenados a 5°C, y en aquellas variedades con una alta tasa de producción de etileno. A pesar de ello, la aplicación de 1-MCP después de la cosecha posibilitó el almacenamiento a 0°C (hasta 50 días) de los frutos de cosechas tardías, y permitió el almacenamiento a 5°C (hasta 30 días) de los frutos de cosechas tempranas, con el consecuente ahorro de energía en el almacenamiento frigorífico de estos frutos. Adicionalmente, la aplicación de 1-MCP después de la conservación fue efectiva para prolongar la vida en estante de los frutos, suponiendo ello una ventaja comercial al otorgar una mayor flexibilidad al uso de esta tecnología. La aplicación de 1-MCP en variedades de ciruelas con un comportamiento climatérico suprimido no produjo beneficios con respecto a los frutos control, debido a que la maduración de dichas variedades no depende o depende parcialmente del etileno.

Por otro lado, los resultados obtenidos durante esta tesis demuestran que el etileno participa en el desarrollo de daños por frío (transparencia de pulpa) y que el 1-MCP resulta de interés para reducir este desorden en ciruelas climatéricas. La incidencia de transparencia se relacionó con la respuesta de estrés que se produce tras un corto plazo en frío y su influencia en la inducción del proceso climatérico después de la salida de cámara. También pudo verificarse que la sensibilidad de los frutos a los daños por frío dependió de la variedad (fue mayor en variedades con un patrón de maduración

climatérico acentuado), del estado de madurez a la cosecha (los frutos de cosechas tempranas resultaron ser más sensibles que los de cosechas tardías) y de la temporada (lo cual indica la influencia de factores precosecha).

En todas las ciruelas climatéricas, el tratamiento con 1-MCP redujo significativamente la incidencia de daños por frío. Este efecto se relacionó con el efecto inhibitor que tiene este tratamiento sobre el metabolismo del etileno y especialmente con una mayor capacidad de convertir el ACC en MACC, sugiriendo ello que la malonilación es uno de los procesos implicados en la regulación de la producción de etileno y, por lo tanto, en la prevención de los daños por frío en ciruelas.

En conjunto, los resultados obtenidos en la presente tesis demuestran que el 1-MCP es una herramienta efectiva para mantener la calidad postcosecha de ciruelas japonesas climatéricas. Se propone utilizar este tratamiento para ampliar la ventana de comercialización de estos frutos en mercados cercanos y facilitar su exportación marítima hacia mercados de contra-estación.

---

## RESUM

---

L'emmagatzematge frigorífic de prunes fresques durant llargs períodes de temps és una pràctica habitual en la regió productora Alto Valle de Río Negro y Neuquén (Argentina) que permet allargar el període de venda en el mercat intern o en països veïns, com també possibilitar l'exportació via marítima cap a països de l'hemisferi Nord. A causa de que la vida postcollita de les prunes es veu limitada principalment per l'excessiu estovament i el desenvolupament de danys per fred en el fruit, l'objectiu principal de la present tesi ha estat mantenir la qualitat i millorar l'emmagatzematge frigorífic dels fruits d'aquesta espècie mitjançant l'aplicació de tractaments amb 1-metilciclopropé (1 MCP).

Els resultats obtinguts han permès comprovar que l'aplicació de 1-MCP disminueix la producció d'etilè i, en conseqüència, retarda la maduració postcollita en prunes climatèriques. Els fruits tractats van presentar un menor grau d'estovament de la polpa, menys pèrdua de l'acidesa, i menys canvis en el color de l'epidermis i de la polpa. L'efecte de l'1-MCP sobre la maduració en prunes climatèriques va ser independent de la dosi aplicada, i va ser menor a mesura que s'incrementava la capacitat dels fruits en produir etilè. En aquest sentit, l'efecte va ser menor quan es prolongava la vida comercial a 20°C, quan els fruits corresponien a dates de collita tardanes, quan es tractava de fruits emmagatzemats a 5°C, i en aquelles varietats amb una elevada velocitat de producció d'etilè. A pesar d'això, l'aplicació d'1-MCP després de la collita va fer possible l'emmagatzematge a 0°C (fins a 50 dies) dels fruits recol·lectats tardanament, i va permetre l'emmagatzematge a 5°C (fins a 30 dies) dels fruits recol·lectats en una data primerenca (la qual cosa suposa que es pot obtenir un estalvi energètic en l'emmagatzematge d'aquests fruits). D'altra banda, l'aplicació de 1-MCP després de la conservació va ser efectiva per perllongar la vida comercial dels fruits, representant això un avantatge de tipus comercial pel sector (a l'aportar una major flexibilitat a l'aplicació d'aquesta tecnologia). L'aplicació d'1-MCP en varietats de prunes amb un comportament climatèric suprimit no va suposar beneficis en comparació als fruits control, cosa atribuïble al fet de que la maduració d'aquestes varietats no depèn, o ho fa parcialment, de l'etilè.

D'un altre costat, els resultats obtinguts en la tesi demostren que l'etilè participa en el desenvolupament dels danys per fred (transparència de la polpa) i que l'1-MCP resulta interessant per a reduir aquests desordres en prunes climatèriques. La incidència de transparència es va relacionar amb la resposta d'estrès que es produeix en els fruits a curt termini durant la permanència dels mateixos en fred, i la seva influència en la



inducció del procés climatèric després de la sortida de cambra frigorífica. També es va poder verificar que la sensibilitat dels fruits als danys per fred depenia de la varietat (essent major en aquelles varietats que presenten un patró de maduració climatèrica més accentuat), de l'estat de maduresa (essent els fruits de collites primerenques més sensibles que els de collites tardanes), i de la campanya (la qual cosa indica la influència de factors precollita).

En aquelles varietats climatèriques de prunes, el tractament amb 1-MCP va reduir significativament la incidència de danys per fred. Aquest efecte es va relacionar amb l'efecte inhibidor que té aquest tractament sobre el metabolisme de l'etilè i especialment amb la major capacitat de convertir l'ACC en MACC, suggerint això que la malonització és un dels processos implicats en la regulació de la producció d'etilè, i, per tant, en la prevenció de danys per fred en prunes.

En conjunt, els resultats obtinguts en la present tesi demostren que l'1-MCP és una eina efectiva per mantenir la qualitat postcollita de prunes climatèriques. Així doncs, es proposa aquest tractament per ampliar el període de comercialització d'aquestes prunes cap a mercats pròxims i per facilitar l'exportació marítima cap a mercats de contra-estació.

---

## SUMMARY

---

Long-term refrigerated storage of fresh Japanese plums is a regular practice in the productive region of the High Valley of Río Negro and Neuquén (Argentina). It allows extended sale periods in the domestic market and neighbouring countries and export by sea to the Northern Hemisphere. Given that plum's postharvest life is limited due to excessive softening and chilling injury development, the main aim of this thesis was to maintain and improve the quality of plums during storage by applying 1-methylcyclopropene (1-MCP).

1-MCP application reduced ethylene production and thus delayed postharvest ripening in climacteric plums. 1-MCP-treated fruit exhibited a reduction in flesh softening, in acidity loss and in epidermis and flesh colour changes. The effect of 1-MCP on ripening in climacteric plums was not affected by the dose and decreased as the ethylene production capacity increased with maturity. 1-MCP was also less effective when commercial life at 20°C was extended, in late harvested fruit, in fruit stored at 5°C, and in cultivars with high ethylene production rates. However, postharvest application of 1-MCP remained effective to improve the quality of late-harvested fruit stored up to 50 days at 0°C and early-harvested fruit storage up to 30 days at 5°C, the later possibly resulting in power savings during fruit storage. Additionally, a post-storage 1-MCP treatment was effective in extending the fruit's shelf life allowing a more flexible use of this technology. The application of 1-MCP to plum cultivars showing a suppressed climacteric behaviour, making them not or only partially ethylene dependent, did not result in any benefit.

Our results also showed that ethylene participates in chilling injury development (flesh translucency) and that 1-MCP may reduce these disorders in climacteric plums. Translucency incidence was related to short-term response to cold stress and to the induction of the climacteric process after removal from cold storage. Fruit sensitivity to chilling injury was also cultivar dependent (cultivars with a marked climacteric ripening pattern were more sensitive), related to harvest maturity (early-harvested fruit was more susceptible than late-harvested fruit) and of the year (which indicates the influence of pre-harvest factors).

The incidence of chilling injury was significantly reduced by 1-MCP treatment in all the climacteric plum cultivars. This was related to the effect that this treatment has on ethylene metabolism, and particularly to enhanced ability to convert ACC to MACC. These results, suggest that malonylation is one of the most important processes involved in ethylene regulation in plums and thus in the prevention of chilling injury.

Collectively, the results presented in this thesis show that 1-MCP is an effective tool to maintain postharvest quality of climacteric Japanese plums. They suggest that this treatment could be used to widen the commercial window of these fruits in neighbouring markets and to facilitate shipping to distant markets.

---

## ABREVIATURAS

---

**1-MCP:** 1-metilciclopropeno

**AC:** atmósfera controlada

**ACC:** ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico

**ACS:** ACC sintasa

**ACO:** ACC oxidasa

**AIBA:** ácido- $\alpha$ -aminoisobutirico

**AM:** atmósfera modificada

**AOA:** ácido aminoetoxiacético

**AOS:** *active oxigen species*

**AT:** acidez titulable

**ATP:** adenosín tri-fosfato

**AVG:** aminoetoxivinilglicina

**CAR:** Censo Agrícola Rionegrino

**CAT:** catalasa

**CI:** *chilling injury*

**CNA:** Censo Nacional Agropecuario

**EAO:** especies activas de oxígeno

**EGasa:** endo-1,4- $\beta$ -glucanasa

**EL:** *electrolyte leakage*

**endoPG:** endo-poligalacturonasa

**exoPG:** exo-poligalacturonasa

**FunBaPa:** Fundación Barrera Patagónica

**F.W.:** *fresh weight*

**HR:** humedad relativa

**IASCAV:** Instituto Argentino de Sanidad y Calidad Vegetal

**IDR:** Instituto de Desarrollo Rural

**MACC:** malonil-ACC

**MET:** metionina

**PAL:** fenil-amonio-liasa

**PE:** pectin-esterasa

**PG:** poligalacturonasa

**POX:** peroxidasa

**PPO:** polifenol-oxisasa

**RH:** *relative humidity*

**SAM:** s-adenosin metionina

**SOD:** superóxido-dismutasa

**SSC:** *soluble solids content*

**SST:** sólidos solubles totales

**TA:** *titratable acidity*

**U.a.:** *units of activity*

# ÍNDICE



<b>I- INTRODUCCION GENERAL</b>	23
<b>1. GENERALIDADES</b>	25
1.1. Ciruelas: contexto mundial y regional	
1.2. Características biológicas de las ciruelas	26
1.3. Características e importancia de las variedades estudiadas	27
1.3.1. Royal Zee	
1.3.2. Blackamber	
1.3.3. Friar	
1.3.4. Linda Rosa	29
1.3.5. Larry Ann	
1.3.6. Angeleno	
<b>2. EL ETILENO</b>	31
2.1. Generalidades	
2.2. Biosíntesis y regulación del etileno	
2.3. Modo de acción	34
<b>3. EL PROCESO DE MADURACIÓN Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD DE LAS CIRUELAS</b>	34
3.1. El proceso de maduración	
3.2. Atributos de calidad en las ciruelas	36
3.3. Momento de cosecha	37
<b>4. LOS DAÑOS POR FRÍO Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD DE LAS CIRUELAS</b>	38
4.1. Mecanismos bioquímicos de los daños por frío	
4.2. El metabolismo oxidativo y su relación con los daños por frío	40
4.3. Factores que afectan la sensibilidad a los daños por frío	
4.4. Síntomas de daños por frío en ciruelas	42
4.4.1. Transparencia ( <i>gel breakdown</i> )	
4.4.2. Pardeamiento interno ( <i>internal browning</i> )	43
4.4.3. Harinosidad ( <i>mealiness</i> )	

<b>5. MANTENIMIENTO DE LA CALIDAD POSTCOSECHA DE CIRUELAS</b>	<b>44</b>
5.1. Condiciones de almacenamiento	
5.1.1. Manejo de la temperatura	
5.1.2. Modificación atmosférica	45
5.2. Tratamientos postcosecha	46
5.2.1. Tratamientos con poliaminas	
5.2.2. Tratamientos térmicos	47
5.2.3. Tratamientos con 1-metilciclopropeno	
<b>6. EL 1-METILCICLOPROPENO (1-MCP)</b>	<b>48</b>
6.1. Características fisicoquímicas y comerciales del 1-MCP	
6.2. Acción fisiológica del 1-MCP	49
6.3. Factores que afectan la respuesta al 1-MCP	50
<b>7. REFERENCIAS</b>	<b>52</b>
<b>II- OBJETIVOS</b>	<b>63</b>
<b>III- PLAN DE TRABAJO</b>	<b>67</b>
<b>IV- RESULTADOS</b>	<b>73</b>
<b>Capítulo 1</b> - Improvement of storability and shelf life of 'Blackamber' plums treated with 1-methylcyclopropene.	75
<b>Capítulo 2</b> - Respuesta al tratamiento con 1-metilciclopropeno en ciruelas 'Larry Ann' cosechadas en tres estados de madurez diferentes y almacenadas a 0°C y 5°C.	91
<b>Capítulo 3</b> - Roles of climacteric ethylene in the development of chilling injury in plums.	121
<b>Capítulo 4</b> - Physiological response of 'Larry Ann' plums to cold storage and 1-MCP treatment.	137
<b>Capítulo 5</b> - Specific interests of a post-storage 1-MCP treatment in plums.	157
<b>Capítulo 6</b> - Quality and chilling injury during storage of different plum cultivars: benefits of 1-methylcyclopropene treatment.	177

<b>V- DISCUSION GENERAL</b>	199
<b>1. EFECTO DEL 1-MCP SOBRE LA MADURACIÓN POSTCOSECHA DE CIRUELAS JAPONESAS</b>	201
1.1. Producción de etileno	
1.2. Firmeza de pulpa	202
1.3. Acidez titulable y sólidos solubles totales	203
1.4. Color de la epidermis y de la pulpa	204
<b>2. EFECTO DEL 1-MCP SOBRE EL DESARROLLO DE LOS DAÑOS POR FRÍO EN CIRUELAS JAPONESAS</b>	205
<b>3. FISIOLÓGÍA DE LOS DAÑOS POR FRÍO</b>	207
3.1. El papel del etileno	208
3.2. Efecto de las bajas temperaturas sobre el metabolismo del etileno	209
3.3. Efecto de las bajas temperaturas sobre las membranas celulares	210
3.4. Efecto de las bajas temperaturas sobre el metabolismo oxidativo	
<b>4. FACTORES QUE AFECTAN LA RESPUESTA DE LAS CIRUELAS JAPONESAS AL TRATAMIENTO CON 1-MCP</b>	211
4.1. Estado de madurez de los frutos en el momento de la cosecha	212
4.2. Patrón de maduración de la variedad	213
4.3. Tiempo entre la cosecha y la aplicación	
4.4. Temperatura y duración del almacenamiento	215
<b>5. REFERENCIAS</b>	217
<b>VI- CONCLUSIONES</b>	227
<b>VII- FUTURAS INVESTIGACIONES</b>	231



# I INTRODUCCIÓN GENERAL



# 1 GENERALIDADES

---

## 1.1. CIRUELAS: CONTEXTO MUNDIAL Y REGIONAL

---

La producción mundial de ciruelas es cercana a los 10 millones de toneladas, de las cuales China produce el 45%. La Argentina es el primer productor de ciruela del Hemisferio Sur, seguida por Chile y Sudáfrica, y se encuentra entre uno de los tres mayores países exportadores del mismo grupo (Zubeldía y Villareal, 2004).

La superficie implantada con ciruelas en la Argentina es de 20.886 hectáreas (CNA, 2002) situadas principalmente en la región de Cuyo, donde prevalecen las ciruelas europeas destinadas a la industria del desecado (IDR, 2005). Sin embargo, la mayor parte de las plantaciones de ciruela para consumo en fresco se encuentra en la región de los valles de las provincias de Río Negro y Neuquén, donde más del 90% de las variedades pertenecen al grupo de las ciruelas japonesas (CAR, 2005).

El 30% de las ciruelas producidas en las provincias de Río Negro y Neuquén tiene por destino la exportación, mientras que el 70% restante se comercializa en el mercado interno (FunBaPa, 2008). Las ciruelas argentinas son ampliamente demandadas por Brasil, que compra el 45% del total exportado por esta región. Sin embargo, la ciruela es el principal fruto de hueso que se consume en invierno en la Unión Europea y en los últimos años se ha registrado un importante incremento de la demanda en países tales como Holanda, Bélgica, España e Inglaterra (FunBaPa, 2008).

El mercado de contra-estación es una estrategia comercial muy interesante debido a que permite lograr buenos precios y ampliar la ventana de venta. Sin embargo, el transporte marítimo hasta el Hemisferio Norte demora entre 25 y 35 días, lo cual es riesgoso en un producto tan perecedero como la ciruela y requiere de un óptimo manejo postcosecha para lograr el éxito.

Aún bajo óptimas condiciones de almacenamiento (0°C y 90% HR), las ciruelas sufren un rápido deterioro debido principalmente al excesivo ablandamiento de la pulpa y a la aparición de síntomas de daños por frío (Taylor et al., 1993a, b, 1994; Plich, 1999). Por este motivo, es fundamental desarrollar estrategias de manejo postcosecha que permitan reducir este deterioro y lograr que la exportación marítima sea un medio seguro para que la fruta llegue al mercado de destino con la calidad esperada.

---

## 1.2. CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE LAS CIRUELAS

---

Dentro del género *Prunus* se distinguen numerosas especies frutícolas denominadas en su conjunto 'frutas de hueso' o 'frutas de carozo' entre las cuales se encuentran *P. domestica* Lindl (ciruelas europeas) y *P. salicina* Lindl (ciruelas japonesas) con diversidad de variedades en cada una de ellas. Las ciruelas europeas se destinan mayormente a la industria del desecado, siendo las principales variedades: 'D´Agen', 'President', 'Reine Claude', 'Valor', etc. En cambio, las ciruelas japonesas son las más difundidas para su consumo en fresco, por lo que serán el objeto de estudio de esta tesis, encontrándose entre las mismas las siguientes variedades: 'Angelino', 'Beauty', 'Blackamber', 'Black Diamond', 'Friar', 'Golden Japan' ('Shiro'), 'Larry Ann', 'Linda Rosa', 'Red Rosa', 'Royal Diamond', 'Royal Zee', 'Santa Rosa', 'Songold', etc.

Botánicamente, la ciruela se corresponde con una drupa, que es un tipo de fruto carnoso que consta de un exocarpio coriáceo, un mesocarpio carnoso y una sola semilla incluida dentro de un endocarpio leñoso, conocido como hueso o carozo. La curva de crecimiento característica de estos frutos es una doble sigmoidea, en la cual se identifican tres etapas: Etapa I (división y alargamiento celular), Etapa II (endurecimiento del endocarpio) y Etapa III (aumento del tamaño celular y de los espacios intercelulares).

Respecto a la fisiología de su maduración, las ciruelas han sido tradicionalmente clasificadas como frutos climatéricos. Sin embargo, Kader y Mitchell (1989) observaron que la tasa de maduración de las ciruelas dependía de la variedad, pudiendo ser alta ('Frontier'), moderada ('Ambra', 'Friar', 'Gran Rosa', 'Laroda'), baja ('President', 'Red Beaut', 'Santa Rosa', 'Simka') o muy baja ('Black Beaut', 'Casselman', 'Nubiana', 'Roysum'). Años más tarde, Abdi et al. (1997b) demostraron que la tasa de producción de etileno difería notablemente entre ciertas variedades de ciruela y determinaron que existen dos patrones de maduración diferentes a los cuales denominaron 'climatérico' y 'climatérico suprimido', los cuales se detallarán más adelante.



---

## **1.3. CARACTERÍSTICAS E IMPORTANCIA DE LAS VARIEDADES ESTUDIADAS**

---

### **1.3.1. Royal Zee**

Ciruela japonesa (polinización de 'Royal Beauty') originaria de Estados Unidos (Foto 1). Madura a principios de diciembre. Los frutos son medianos a pequeños y de forma redondeada algo achatada en los polos. El color de cobertura es rojo intenso y la pulpa es amarilla y desarrolla color rojo bajo la piel cuando avanza la madurez. Se cosechan con un 20% de cobertura y se cubren totalmente durante la postcosecha. Son de textura mediano-firme, poco fibrosa, muy jugosa y se ablandan rápidamente, lo cual reduce su resistencia al manipuleo. Su calidad organoléptica es buena, con una pulpa dulce y perfumada (Behrend et al., 1996; Calvo, 2004). Su patrón de maduración es climatérico. Entre más de 41 variedades de ciruela, 'Royal Zee' ocupa el 1% de la superficie implantada (CAR, 2005).

### **1.3.2. Blackamber**

Ciruela japonesa ('Friar' x 'Queen Rosa'), originaria de Estados Unidos (Foto 2). Madura a fines de diciembre. Los frutos son medianos y de forma redondeada, achatada en los polos, con el ápice aplanado. El color de cobertura es negro brillante y alcanza el 100%. La pulpa es color amarillo claro y desarrolla color rojo bajo la piel cuando avanza la madurez. De textura firme, poco fibrosa, muy jugosa y con buena resistencia al manipuleo. Su calidad organoléptica es muy buena, con una pulpa dulce, jugosa y de aroma perfumado (Behrend et al., 1996; Calvo, 2004). Su patrón de maduración es climatérico. Entre más de 41 variedades de ciruela, 'Blackamber' es una de las más difundidas y ocupa el 4,5% de la superficie implantada (CAR, 2005).

### **1.3.3. Friar**

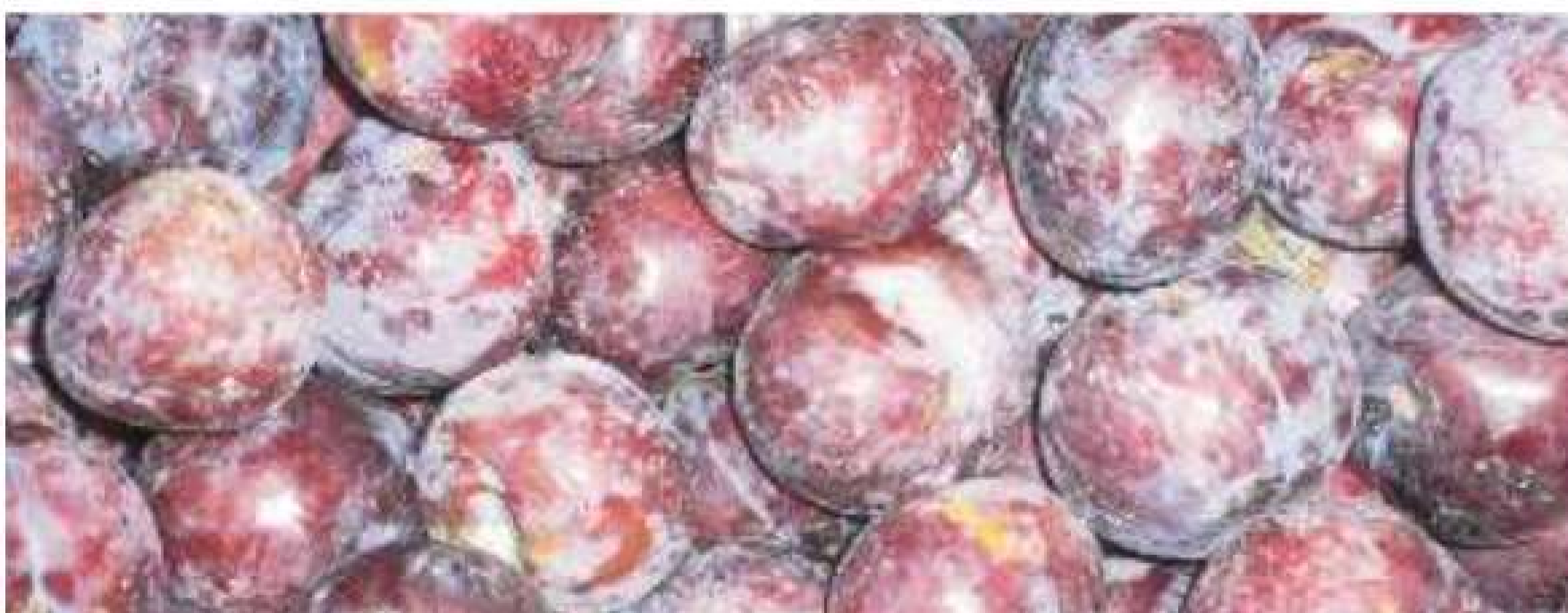
Ciruela japonesa originaria de Estados Unidos (Foto 3). Madura a fines de enero. Los frutos son medianos a grandes y de forma redondeada achatada. El color de cobertura es violeta oscuro a negro y la pulpa es amarillo claro. Son de textura firme, poco fibrosa, jugosa, con buena resistencia al manipuleo. Son de calidad organoléptica muy buena, con una pulpa dulce y de aroma intenso (Behrend et al., 1996). Su patrón de maduración es climatérico. 'Friar' es una de las principales variedades en la producción mundial y ocupa el 3,8% de la superficie implantada (CAR, 2005).



**Foto 1.** Ciruelas 'Royal Zee' al momento de cosecha.



**Foto 2.** Ciruelas 'Blackamber' al momento de cosecha.



**Foto 3.** Ciruelas 'Friar' al momento de cosecha.

#### **1.3.4. Linda Rosa**

Ciruela japonesa, de la que se cuenta con poca información (Foto 4). Madura a fines de enero. Los frutos son medianos a grandes y de forma oblonga con ápice aplanado. El color de cobertura es rosado intenso y la pulpa es amarillo claro. Son de textura poco fibrosa, jugosa y firme, con buena resistencia al manipuleo. Son de calidad organoléptica buena, con una pulpa dulce y aromática (Behrend et al., 1996). Su patrón de maduración es climatérico. 'Linda Rosa' es una de las variedades de ciruela más difundidas de la región y ocupa el 9,4% de la superficie implantada (CAR, 2005).

#### **1.3.5. Larry Ann**

Ciruela japonesa, originaria de los Estados Unidos (Foto 5). Sinónimos: 'Larry Anne', 'Tegan Blue', 'Freedom' (Reglamento CE N°848, 2000). Madura en la segunda quincena de febrero. Tiene frutos de tamaño medianos a grandes y de forma redondeada, regular. Los frutos alcanzan un 100% de cobertura con color rojo purpúreo, tienen pulpa amarillo anaranjada y desarrollan color rojo por debajo de la piel cuando avanza la madurez. Son de textura firme, fibrosa, jugosa y con buena resistencia al manipuleo. Son de calidad organoléptica buena, con una pulpa dulce y de aroma perfumado (Behrend et al., 1996). Su patrón de maduración es climatérico. 'Larry Ann' es la variedad de ciruelas más difundida en nuestra región, ocupando el 19,4% de la superficie implantada (CAR, 2005).

#### **1.3.6. Angeleno**

Ciruela japonesa (polinización de 'Queen Ann'), originaria de Estados Unidos (Foto 6). Madura entre la segunda quincena de febrero y la primera de marzo. Tiene frutos de tamaño mediano y de forma redondeada y achatada en los polos, con el ápice aplanado. Los frutos alcanzan un 100% de cobertura con color rojo violáceo muy oscuro y tienen pulpa amarilla que tiende al anaranjado cuando avanza la madurez. Son de textura firme, poco fibrosa, jugosa y con muy buena resistencia al manipuleo. Su calidad organoléptica es buena, con una pulpa dulce (Behrend et al., 1996; Calvo, 2004). Su patrón de maduración es climatérico suprimido. Entre más de 41 variedades de ciruela, 'Angeleno' es una de las más difundidas y ocupa el 5,8% de la superficie implantada (CAR, 2005).



**Foto 4.** Ciruelas 'Linda Rosa' al momento de cosecha.



**Foto 5.** Ciruelas 'Larry Ann' al momento de cosecha.



**Foto 6.** Ciruelas 'Angeleno' al momento de cosecha.

## 2 EL ETILENO

---

### 2.1. GENERALIDADES

---

El etileno es un hidrocarburo gaseoso de estructura simple ( $C_2H_4$ ) que es producido por la mayoría de los tejidos vegetales en los cuales actúa como regulador del crecimiento. La tasa de producción de etileno depende del tipo de órgano y del estado de desarrollo, siendo más elevada en los tejidos meristemáticos, estresados o en maduración. En frutos climatéricos, esta hormona es la responsable de iniciar y coordinar los principales cambios que se producen durante la maduración (Abeles et al., 1992).

Se asume que existen dos sistemas que participan en la síntesis del etileno. El Sistema I está presente tanto en frutos climatéricos como en frutos no climatéricos, siendo el responsable de la producción de etileno basal, mientras que el Sistema II sólo está presente en los frutos climatéricos y es el responsable de la producción autocatalítica que acompaña a la maduración (Mc Glasson, 1985).

---

### 2.2. BIOSÍNTESIS Y REGULACIÓN DE ETILENO

---

La ruta de la biosíntesis de etileno ha sido ampliamente estudiada (Yang y Hoffman, 1984). El primer precursor del etileno es la S-adenosin-metionina (SAM), que se forma a partir de la adición de adenina a la metionina (MET) en una reacción catalizada por la enzima SAM sintetasa, con el gasto de una molécula de ATP por cada molécula de SAM sintetizada. A su vez, la SAM es convertida a ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), con la intervención de la enzima ACC sintasa (ACS). Finalmente, el ACC es oxidado por la ACC oxidasa (ACO) para formar etileno,  $CO_2$  y cianida (que es degradada para evitar toxicidad ante una tasa elevada de síntesis de etileno) (Figura 1).

Los pasos claves en el control de la biosíntesis del etileno son la formación de ACC, mediante la ACS, y su conversión a etileno, mediante la ACO. Existen evidencias suficientes que indican que la actividad de ambas enzimas está controlada por el desarrollo de los tejidos del fruto como así también por factores externos (Abeles et al., 1992; Lelièvre et al., 1997).

La ACS es considerada la enzima clave en la biosíntesis de etileno y su actividad se incrementa durante el proceso de maduración, en presencia de auxinas, citoquininas o

etileno exógeno, y ante diferentes tipos de estrés (heridas, bajas temperaturas, anaerobiosis, etc.). Asimismo, la ACS necesita fosfato de piridoxal como cofactor, por lo que su actividad se ve reducida en presencia de compuestos con alta afinidad por el fosfato de piridoxal como la aminoetoxivinilglicina (AVG) y el ácido aminoetoxiacético (AOA) (Abeles et al., 1992).

Al igual que para la ACS, la actividad de la ACO se incrementa durante el proceso de maduración. La ACO es una enzima que requiere dos sustratos: ACC y  $O_2$  por lo que su actividad se ve reducida a bajos contenidos de  $O_2$ . Además, la conversión de ACC a etileno también puede verse disminuida en presencia de análogos estructurales de la ACC, como el ácido  $\alpha$ -aminoisobutírico (AIBA) o de inhibidores de la ACO como los iones de cobalto, el benzilisotiocianato, el ácido salicílico y las temperaturas extremas (Abeles et al., 1992).

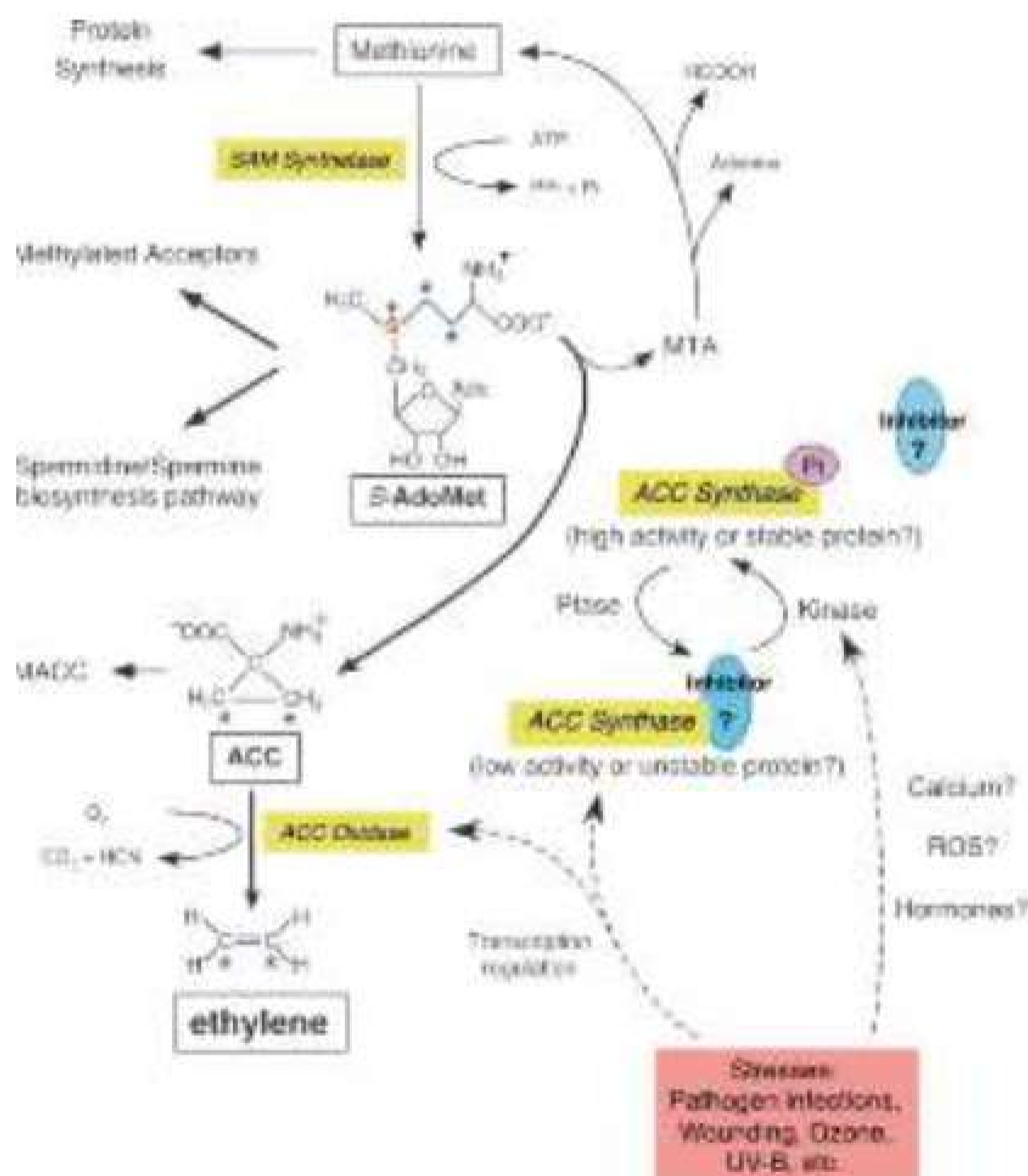


Figura 1. Biosíntesis y regulación del etileno. Fuente: Wang et al. (2002)

Se conoce que la temperatura óptima para la síntesis de etileno es de 30°C, mientras que las bajas temperaturas reducen la actividad ACO, produciendo una acumulación de ACC, y las temperaturas por encima de 35°C bloquean la conversión de ACC a etileno (Bleecker y Kende, 2000).

La producción de etileno también puede verse afectada por la disponibilidad de precursores como la SAM o la ACC. La disponibilidad de SAM puede verse reducida por competición, dado que la misma participa como dadora de grupos propilamino en la síntesis de poliaminas o como dador de metilos en otras vías biosintéticas (Tabor y Tabor, 1984). Asimismo, la ACC puede ser convertida por la ACC-maloniltransferasa en su derivado conjugado malonil-ACC (MACC), que es inactivo y queda secuestrado en la vacuola (Abeles et al., 1992; Bouzayen et al., 1989). El etileno puede incrementar los niveles de ACC-maloniltransferasa en varios tejidos, lo cual supone un efecto autoinhibitorio de la producción de etileno (Abeles et al., 1992). De esta forma, la malonilación puede contribuir a la baja producción de etileno en frutos preclimáticos (Lelièvre et al., 1997).

Dentro de las ciruelas japonesas (*Prunus salicina* L.) se han identificado dos patrones de maduración diferentes. Algunas variedades presentan el típico patrón climatérico, manifestando un incremento en la producción de etileno relacionado con el inicio de la maduración. En cambio, en las variedades denominadas climatéricas suprimidas el proceso de maduración parece ser independiente de etileno, dado que la producción de etileno sólo aumenta en las últimas etapas de la maduración y no alcanza valores muy altos (Abdi et al., 1997b). Según estos autores, las variedades climatéricas suprimidas podrían presentar una incapacidad de convertir ACC en etileno, ya sea por una mayor síntesis de MACC o bien por tener inactivo el Sistema II de producción de etileno.

Entre las variedades de ciruelas japonesas climatéricas se han identificado 'Beauty', 'Gulfruby', 'Royal Zee', 'Pioneer', 'Sapphire', 'Laetitia', 'Black Diamond' y 'Santa Rosa', con tasas máximas de producción de etileno que varían entre 50 y 120  $\mu\text{L L}^{-1} \text{h}^{-1}$  a la cosecha (Abdi et al., 1997b; Zuzunaga et al., 2001; Dong et al., 2002; Kruger et al., 2003; Argenta et al., 2003; Salvador et al., 2003a, b). Entre las variedades climatéricas suprimidas como 'Shiro' o 'Golden Japan', 'Rubired', 'Red Rosa', 'Songold' y 'Angelino' la tasa máxima de producción de etileno varía entre 0.1 y 5  $\mu\text{L L}^{-1} \text{h}^{-1}$  (Abdi et al., 1997b; Zuzunaga et al., 2001; Dong et al., 2001a; Kruger et al., 2003; Valero et al., 2005).



---

## 2.3. MODO DE ACCIÓN

---

Al igual que otras hormonas, el etileno se une a un receptor específico de los tejidos del fruto para formar un complejo que dispara la maduración (Wills et al., 1998). Se ha propuesto que el etileno se une reversiblemente a una serie de receptores específicos localizados en la membrana celular, los cuales están formados por dos proteínas: una histidina-quinasa que actúa como sensor autofosforilando la histidina y una proteína transductora que recibe el fosfato de la histidina, activándose y desencadenando una cascada de activación de genes que termina en los distintos efectos fisiológicos relacionados con la acción del etileno.

Además del etileno, existen otros compuestos que pueden interactuar con el sitio de unión y que son considerados 'análogos', cuando causan una respuesta similar a la del etileno, o 'antagonistas', cuando previenen la respuesta fisiológica. En el primer grupo se encuentran una serie de compuestos hidrocarbonados como el propileno, el 1-buteno, el monóxido de carbono, el acetileno y el aleno. Entre los segundos, pueden citarse el dióxido de carbono, el trans-cicloocteno, el cis-2-buteno, el 1,3-butadieno, el 2,5-norbornadieno y los ciclopropenos. Entre los muchos ciclopropenos que bloquean la acción del etileno, el 1-metilciclopropeno (1-MCP) resulta ser uno de los más efectivos y se encuentra actualmente bajo uso comercial (Burg y Burg, 1967; Sisler y Sereck, 1999)

## 3 EL PROCESO DE MADURACIÓN Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD DE LAS CIRUELAS

---

### 3.1. EL PROCESO DE MADURACIÓN

---

El proceso de maduración está íntimamente relacionado con la calidad de los frutos debido a que consiste en una serie de cambios bioquímicos, fisiológicos y estructurales que hacen al fruto atractivo para el consumidor (Lelièvre et al., 1997).

Las ciruelas tienen un contenido de ácidos elevado que disminuye durante la maduración debido a su utilización de los mismos como sustrato respiratorio (Tucker,



1996). Los ácidos son, por lo tanto, una fuente de reservas para el fruto (Wills et al. 1998). En las ciruelas, el ácido predominante es el ácido málico, seguido por el ácido cítrico o quínico (Kader y Mitchell, 1989). El contenido de sólidos solubles se incrementa durante la maduración del fruto debido a la acumulación de azúcares provenientes de la planta, pero no aumenta después de la cosecha debido a que las frutas de carozo no contienen almidón. El azúcar predominante en ciruelas es la sacarosa (50%), seguido por la glucosa (40%), la fructosa (10%) y el sorbitol (Kader y Mitchell, 1989; Tucker, 1996). Los compuestos volátiles como los ésteres, alcoholes, aldehídos, cetonas y ácidos son los responsables del aroma de los frutos. Estos compuestos se incrementan durante la maduración y están presentes en cantidades pequeñas pero suficientes para darle al fruto su aroma característico (Kader y Mitchell, 1989). No hay información acerca de cual es el compuesto más representativo del aroma en ciruelas. La producción de aromas en ciruelas está directamente relacionada con los niveles de etileno (Abdi et al., 1998).

Se ha observado que durante el desarrollo de ciruelas 'Friar' y 'Angeleno', el contenido de clorofila, carotenoides, fenoles totales y flavonoides en piel disminuyen, mientras que el contenido de azúcares, antocianinas y la actividad de la polifenol oxidasa (PPO) se incrementan (Yuan-Hui et al., 2004). Mientras que la cianidin-3-galactosidasa es la principal antocianina responsable del color en ciruelas (Tucker, 1996), los principales compuestos fenólicos (polifenoles o taninos) de las frutas de carozo son el ácido cafeico, ácido clorogénico, leucoantocianinas, catequinas y flavonoides (Kader y Mitchell, 1989). Las antocianinas derivan de los compuestos flavonoides, en cuya síntesis participan dos enzimas clave: la fenil amonio liasa (PAL) y la flavonone sintasa. En ciruelas, el etileno parece acelerar los cambios de color relacionados con la producción de pigmentos antociánicos y la pérdida de clorofila (Abdi et al., 1998). Asimismo, la aplicación de etileno exógeno (en forma de Ethephon) estimula el desarrollo de antocianinas en ciruelas 'Santa Rosa' (Lee y Lee, 1980). Las ciruelas también desarrollan color rojo en la pulpa, lo cual ha sido considerado como un síntoma de daño por frío (Crisosto et al., 1999). Sin embargo, el contenido de antocianinas en la pulpa no varía durante el almacenamiento a 3°C pero se incrementa en fruta almacenada a 20 o 30°C (Tsuji et al., 1983), sugiriendo que sería un cambio relacionado con el proceso normal de maduración del fruto, tal como fue propuesto por Dong et al. (2002) para ciruelas 'Royal Zee'.

A medida que maduran, las ciruelas pierden firmeza. En general, el cambio de textura durante la maduración de los frutos se debe mayoritariamente a la degradación de las

paredes celulares, las cuales están compuestas en un 90-95% por celulosa, hemicelulosa y pectinas (Tucker, 1996). El ablandamiento consiste principalmente en la degradación de las pectinas presentes en la laminilla media. Durante la maduración, hay una pérdida de azúcares de la porción neutra de la pectina (galactosa y arabinosa, en menor medida) y un aumento en la solubilización de la porción ácida (depolymerización del ácido galacturónico) (Tucker, 1996). Las principales enzimas relacionadas con estos cambios son la pectin-esterasa (PE), la poligalacturonasa (PG),  $\beta$ -(1-4) glucanasa o celulasa y  $\beta$ -galactosidasa. El ablandamiento de los frutos es una de las variables más dependientes del etileno (Lelièvre et al., 1997), habiéndose demostrado recientemente que el ablandamiento durante la maduración de las ciruelas 'Tegan Blue' está relacionado con un aumento de la actividad de las enzimas que participan en la degradación de la pared (Khan y Singh, 2007).

---

### 3.2. ATRIBUTOS DE CALIDAD EN LAS CIRUELAS

---

La calidad de los frutos es un concepto amplio referido a aquellas características que determinan la aceptación del producto por parte del consumidor. Dentro de estas características se encuentran los aspectos comerciales, los atributos sensoriales (apariencia, textura, gusto y aroma), las propiedades sanitarias, el valor nutritivo y la ausencia de enfermedades, desórdenes y daños mecánicos (Neri, 2003). En general, las reglamentaciones de calidad establecen categorías de fruta basadas en el tamaño, la forma y el aspecto interno y externo de los frutos (IASCAV, 1993). Sin embargo, en la actualidad los consumidores de ciruelas son más exigentes y priorizan otros atributos como el gusto (principalmente, el dulzor), el aroma y la jugosidad (Hoehn et al., 2005).

El contenido de ácidos y azúcares está directamente relacionado con el sabor de los frutos. Se ha demostrado que el contenido de sólidos solubles es un buen indicador del dulzor de las ciruelas y que la preferencia de los consumidores aumenta a medida que el contenido de sólidos solubles es mayor (Neri, 2003; Hoehn et al., 2005). Por ejemplo, se ha propuesto que las ciruelas de California deben tener un mínimo de 12% de sólidos solubles (Crisosto et al., 2004) y que las ciruelas 'Blue Giant' sólo alcanzan una calidad organoléptica óptima cuando su contenido de sólidos solubles es igual o mayor a 18% (Candan, 2004b). La acidez juega también un papel importante en la percepción del dulzor. En variedades ácidas como 'Blackamber', la preferencia de los consumidores es mayor a medida que disminuyen los valores de acidez, principalmente cuando los frutos tienen un bajo contenido de sólidos solubles, aunque

esto no ocurre en variedades con bajos niveles de acidez como 'Fortune' (Crisosto et al., 2004; 2007). Mediante la evaluación sensorial de 12 variedades de ciruela, pudo determinarse que al momento de alcanzar la firmeza de consumo (8,8 a 13,2 N), el contenido de sólidos solubles varía entre 9 y 19,8% y la acidez titulable entre 0,18 y 0,87%, dependiendo de la variedad y del origen del lote (Crisosto et al., 2007). El aroma también participa en la calidad organoléptica de los frutos (Wills et al., 1998), como así también los taninos, ya que dichos compuestos se asocian a la astringencia de los frutos (Kader y Mitchell, 1989).

En relación a la calidad nutritiva, las ciruelas son ricas en fibra y sustancias antioxidantes y su consumo contribuye a una adecuada nutrición humana (Kim et al., 2003). Los fenoles son los principales compuestos antioxidantes en ciruelas, incluso más importantes que la vitamina C o los carotenoides (Gil et al., 2002).

La firmeza es un parámetro de calidad muy importante en las ciruelas, ya que se relaciona con la calidad organoléptica de los frutos. Se considera que la calidad óptima de consumo se alcanza cuando los valores de firmeza de la pulpa están entre 8 y 15 N para ciruelas de pulpa blanda, como 'Fortune', y entre 15 y 20 N para ciruelas de pulpa firme, como 'Angeleno' (Neri, 2003). Similarmente, ha sido propuesto que la firmeza de consumo en ciruelas 'Blackamber' se obtiene por debajo de 13 N (Crisosto et al., 2004). Los valores de firmeza también se relacionan con la sensibilidad de la fruta a los daños mecánicos, los cuales favorecen la incidencia de podredumbres y son una importante causa de descarte en ciruelas (Amorim et al., 2008). Aunque las ciruelas son menos sensibles a los daños mecánicos que los melocotones y las nectarinas (Crisosto et al., 2001), se ha establecido que las pérdidas por daño mecánico en ciruela pueden afectar hasta el 23% de los frutos en cosecha y hasta un 9% en postcosecha (Amorim et al., 2008). Según Donoso y Galdames (1973) la firmeza para la manipulación y comercialización de las ciruelas no debe ser inferior a los 8 N, mientras que en trabajos posteriores, Crisosto et al. (2001) observaron que la firmeza mínima para el manejo de postcosecha de las ciruelas debe ser entre 26 y 13 N.

---

### **3.3. MOMENTO DE COSECHA**

---

El momento de cosecha es un factor determinante de la calidad final del producto, debido a que el proceso de maduración continúa después de que la fruta ha sido recolectada. En frutos de cosechas tempranas, la velocidad de este proceso es menor, lo cual reduce la tasa de deterioro. Sin embargo, si bien la firmeza y la acidez disminuyen

durante la conservación, los frutos de cosechas muy tempranas no siempre alcanzan la calidad organoléptica deseada por los consumidores (Crisosto et al., 2004; Hoehn et al., 2005). En cambio, los frutos de cosechas tardías alcanzarán óptimas características organolépticas, pero su tasa de deterioro es mayor, reduciéndose su potencial de conservación y presentando una vida comercial más breve.

En la región del Alto Valle, la cosecha de ciruelas se inicia de acuerdo a recomendaciones locales de firmeza para cada variedad (Candan et al., 2005). Si bien el mejor indicador para definir la cosecha de las ciruelas es la firmeza de la pulpa, deben tenerse en cuenta otros parámetros de calidad como el tamaño, el porcentaje de cobertura con color y el contenido de ácidos y azúcares. Hay que considerar que en dicha región hay implantadas variedades climatéricas y climatéricas suprimidas y, siendo que las primeras se ablandan más rápidamente que las segundas, su "ventana de cosecha" es más reducida.

## **4 LOS DAÑOS POR FRÍO Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD DE LAS CIRUELAS**

---

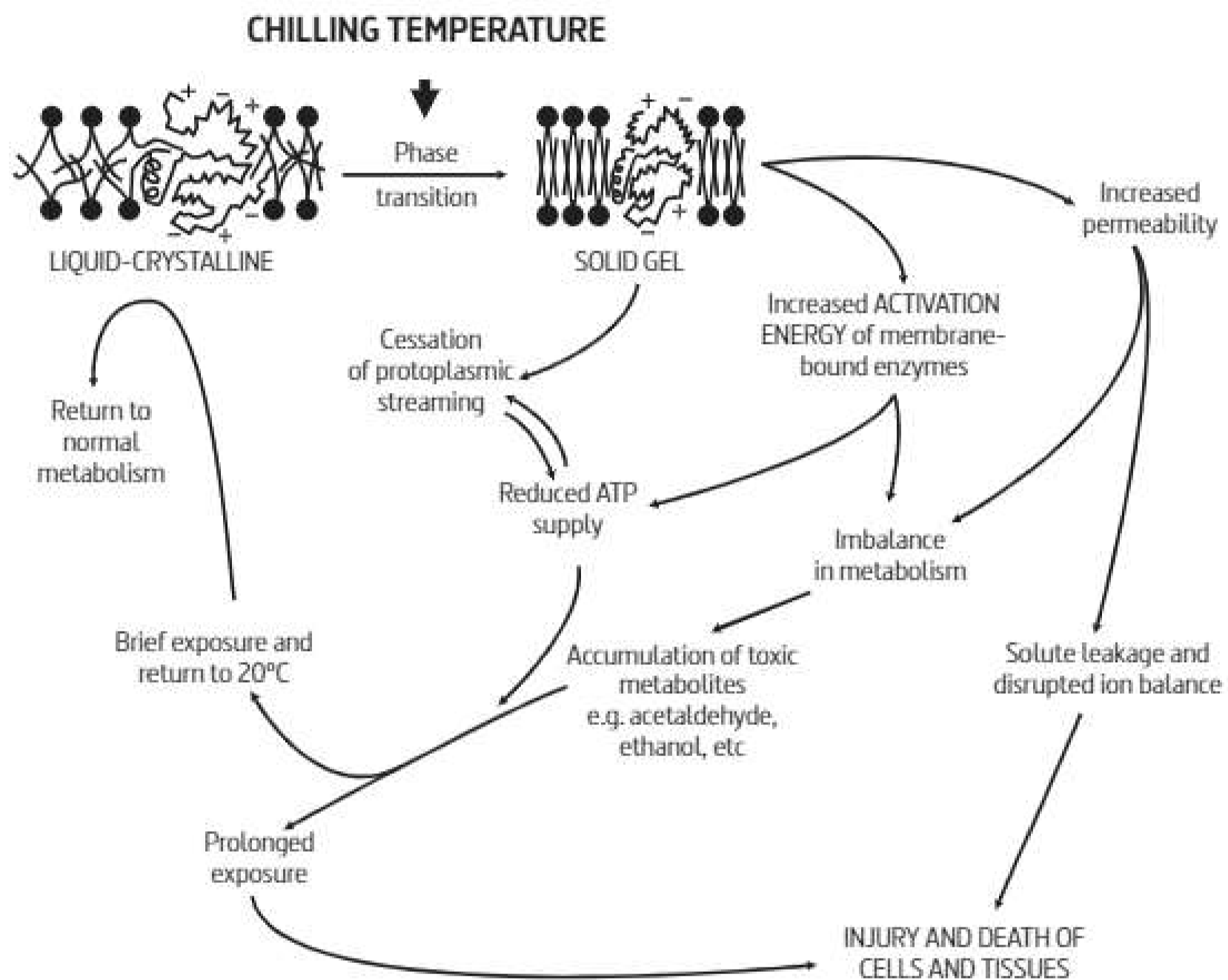
### **4.1. MECANISMOS BIOQUÍMICOS DE LOS DAÑOS POR FRÍO**

---

Los cambios físicos y/o fisiológicos inducidos por la exposición a bajas temperaturas y la subsecuente expresión de los síntomas característicos, se denominan en su conjunto "daños por frío" (Saltveit y Morris, 1990). Ha sido propuesto que en una primera etapa de corta exposición a las bajas temperaturas o "evento primario" ocurren una serie de daños reversibles tales como cambios físicos en las membranas lipídicas, mientras que una exposición prolongada a las bajas temperaturas, da lugar a la segunda etapa del desarrollo de los daños por frío o 'evento secundario', durante el que ocurren una serie de daños irreversibles que culminan en la manifestación de los síntomas visibles.

Una de las teorías más aceptadas para explicar los daños por frío, sostiene que las bajas temperaturas causan una solidificación de los lípidos que provoca un cambio de configuración de las membranas celulares que pasan de una fase líquida-cristalina a una fase gel-sólido (Lyons, 1973). Este cambio produce: a) una disminución de la permeabilidad selectiva de la membrana, con la consecuente pérdida de solutos y desbalance iónico, y b) un incremento en la energía de activación de las enzimas unidas

a la membrana con la consecuente reducción en la producción de energía celular (en forma de ATP). Ambos efectos se traducen en la acumulación de metabolitos tóxicos en las células de los tejidos afectados, con la posterior manifestación de síntomas de daños por frío (Figura 2).



**Figura 2.** Esquema de los mecanismos que conducen a la ocurrencia de los daños por frío en tejidos sensibles (Lyons, 1973).

---

## **4.2. EL METABOLISMO OXIDATIVO Y SU RELACIÓN CON LOS DAÑOS POR FRÍO**

---

Las especies activas de oxígeno (EAO) como el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), el radical superóxido ( $O_2^-$ ), y los radicales hidroxilos ( $OH\cdot$ ) son producidas durante el metabolismo celular normal, pero su acumulación puede provocar la inactivación de enzimas y la peroxidación de los lípidos de la membrana. Para evitar este daño oxidativo las plantas cuentan con sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, que destruyen el exceso de EAO impidiendo su acumulación (Foyer et al., 1994).

El sistema antioxidante no enzimático está formado por sustancias de bajo peso molecular tales como el ácido ascórbico, el glutatión, el  $\alpha$ -tocoferol y los carotenoides, mientras que el sistema antioxidante enzimático está constituido por enzimas como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la peroxidasa (POX) (Foyer et al., 1994). La SOD cataliza la dismutación del anión superóxido para producir oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno. Este último es potencialmente peligroso y puede ser metabolizado por la CAT dando agua y oxígeno, o bien por la POX resultando en la formación de radicales libres. Estos radicales libres son altamente fitotóxicos y su presencia ha sido asociada al desarrollo de daños por frío. Además, la actividad de la POX está implicada en la oxidación de otros compuestos tales como los polifenoles o el ácido ascórbico, y en el desarrollo de los procesos de pardeamiento enzimático (Gong et al., 2001).

Se considera que las condiciones de estrés causan un incremento de los niveles de EAO y de la actividad de las enzimas antioxidantes. Se considera también que el daño oxidativo es una de las primeras respuestas de los tejidos expuestos a bajas temperaturas (Foyer et al., 1994). Aunque no existen estudios realizados en ciruelas, los cambios en la actividad de las enzimas antioxidantes se relacionan con la manifestación de síntomas de daños por frío en mango (Zauberman et al., 1988), melón (Hariyadi y Parkin, 1991), zapallo (Wang, 1995) y manzana (Gong et al., 2001).

---

## **4.3. FACTORES QUE AFECTAN LA SENSIBILIDAD A LOS DAÑOS POR FRÍO**

---

La temperatura crítica por debajo de la cual ocurren los daños por frío es variable de una especie a otra. En las frutas de hueso, los daños por frío ocurren a temperaturas por

debajo de 10°C y por encima del punto de congelación, observándose mayor sensibilidad entre los 2,2°C y 7,8°C, mientras que a 0°C dichos daños se desarrollan más lentamente y con menor intensidad (Mitchell y Kader, 1989; Crisosto et al., 1999).

El inicio de los daños por frío es relativamente rápido en comparación con el tiempo necesario para que se manifiesten los síntomas permanentes. Aunque los síntomas pueden manifestarse durante el almacenamiento a bajas temperaturas, éstos se desarrollan más rápidamente cuando los frutos son expuestos a temperaturas mayores, es decir durante el período de maduración posterior al almacenamiento (Lyons, 1973; Mitchell y Kader, 1989; Saltveit y Morris, 1990). Una característica importante de los daños por frío es que pueden revertirse con la exposición a temperaturas más altas, siempre y cuando los síntomas no se hayan manifestado. Aunque el mecanismo de reversión es aún desconocido, se supone que está más relacionado con la manifestación del síntoma que con el efecto primario (Bramlage y Mair, 1990).

La sensibilidad a los daños por frío varía ampliamente dentro de las frutas de hueso. En general, las ciruelas son menos sensibles que las nectarinas y éstas menos que los melocotones. Además de las diferencias entre especies, la sensibilidad a los daños por frío varía en función del cultivar. Por ejemplo, en melocotones y nectarinas, las variedades de maduración temprana son menos sensibles que las variedades de maduración tardía (Mitchell y Kader, 1989; Crisosto et al., 1999). En cambio, en ciruelas este comportamiento podría resultar a la inversa, y aunque se precisan más estudios para afirmarlo, los cultivares con cortos periodos de desarrollo podrían ser más sensibles que los cultivares con largos periodos de desarrollo (Abdi et al., 1997a). Entre las variedades de ciruela, la sensibilidad puede variar entre baja, moderada o severa (Mitchell y Kader, 1989). Por ejemplo, 'Gulfruby' y 'Shiro' son más sensibles que 'Radiant' (Abdi et al., 1997a), mientras que 'Friar' y 'Howard Sun' lo son más que 'Blackamber', 'Fortune' y 'Angeleno' (Crisosto et al., 1999). Por otro lado, las ciruelas 'Angeleno' no presentan este tipo de desórdenes (Kruger et al., 2003; Menniti et al., 2006).

Los trabajos realizados con la finalidad de establecer la relación entre el estado de madurez del fruto y la sensibilidad a los daños por frío han presentado resultados inconsistentes, por lo que aún no se podría establecer con certeza si la sensibilidad a estos desórdenes es mayor en fruta de cosechas tempranas o de cosechas tardías. En ciruelas 'Pioneer' y 'Songold', cosechadas en 5 estados de madurez, no se observaron diferencias en el desarrollo de desórdenes, después de 5 semanas de almacenamiento (Kruger et al., 2003). En cambio, ensayos realizados con ciruelas 'Stanley' y 'Valor'

demonstraron que los frutos de cosechas tempranas presentaban menor incidencia de daños por frío y mantenían una mejor calidad (Plich, 1999). También se ha observado que las ciruelas 'Songold' y 'Blackamber' de cosechas tempranas son más sensibles al pardeamiento interno, mientras que aquellas de cosechas tardías presentan mayor sensibilidad a transparencia de la pulpa (Taylor et al., 1995; Crisosto et al., 2004).

La relación entre la presencia de etileno y el desarrollo de daños por frío en ciruelas ha sido poco estudiada. Sin embargo, puede existir una relación (directa o indirecta) entre la producción de etileno y la sensibilidad a los daños por frío, la cual no está aún esclarecida y será por ello objeto de nuestros estudios.

---

#### 4.4. SÍNTOMAS DE DAÑOS POR FRÍO EN CIRUELAS

---

En general, los síntomas de daños por frío no se manifiestan durante el almacenamiento a bajas temperaturas sino durante la etapa de maduración posterior a temperatura ambiente. En ciruelas, los principales síntomas de daño por frío son la transparencia y el pardeamiento de la pulpa, y aunque la harinosidad es menos frecuente también ha sido observada en algunos cultivares (Taylor et al., 1993a, b; Crisosto et al., 1999; Candan, 2004a; Manganaris et al., 2008). Estos síntomas se desarrollan en la pulpa de los frutos sin afectar el aspecto externo de los mismos, por lo cual son los consumidores quienes suelen detectar el problema (Dodd, 1984; Hartmann et al., 1988).

Una característica de los daños por frío es que no se transfieren de una a otra zona del fruto, por lo cual la localización de un síntoma puede indicarnos zonas con distinta sensibilidad dentro de un mismo fruto (Saltveit y Morris, 1990). De hecho, la pulpa de las ciruelas puede dividirse en dos zonas con distintas características fisiológicas: el mesocarpio interno, más sensible a la transparencia de la pulpa y el mesocarpio externo, más sensible al pardeamiento interno (Abdi et al., 1997a).

##### 4.4.1. Transparencia (*gel breakdown*)

Los frutos afectados presentan un aspecto externo normal, pero la zona de la pulpa que rodea al hueso (mesocarpio interno) desarrolla una textura gelatinosa (Taylor et al., 1993a). Inicialmente, las zonas afectadas mantienen una apariencia translúcida y vítrea, aunque con el transcurso del tiempo es normal que se oscurezcan y alcancen colores pardos (Foto 7-A). Se ha propuesto que el desarrollo de la transparencia se



debe a la formación de geles en los espacios intercelulares. Estos geles resultan de la unión entre pectinas, iones y agua libre, lo cual se traduce además en bajas cantidades de jugo extractable (Taylor et al., 1993a,b). Las bajas temperaturas incrementan la permeabilidad de las membranas, permitiendo que los iones y los fluidos celulares se unan a las pectinas, formando geles (Taylor et al., 1994).

#### 4.4.2. Pardeamiento interno (*internal browning*)

Los frutos afectados presentan un aspecto externo normal, pero la pulpa situada por debajo de la epidermis (mesocarpio externo) desarrolla una coloración parda (Foto 7-B), debido a la oxidación enzimática de polifenoles y taninos (Dodd, 1984). El pardeamiento de la pulpa se debe a la acción de la enzima polifenol-oxidasa (PPO) la cual, en presencia de oxígeno, cataliza la oxidación de numerosos compuestos como los fenoles. En condiciones normales, la interacción entre esta enzima y su sustrato está restringida, pero el incremento en la permeabilidad de las membranas debido a las bajas temperaturas, permite que esta enzima entre en contacto con su sustrato y que la reacción de oxidación ocurra, y se manifieste el daño como pardeamiento interno de la pulpa (Lill et al., 1989; Murata, 1990).



**Foto 7.** Síntomas de daño por frío en ciruelas. Transparencia de la pulpa en ciruelas 'Blackamber' (A) y pardeamiento de la pulpa en ciruelas 'Songold' (B).

#### 4.4.3. Harinosidad (*mealiness*)

Los frutos afectados presentan ausencia de jugosidad en la pulpa y desarrollan una

textura granulosa y seca. Algunas variedades de ciruelas, principalmente las de maduración temprana, como 'Showtime', 'Blackamber' y 'Fortune', son sensibles a este desorden (Crisosto et al., 1999). Recientemente se ha propuesto que la harinosidad en ciruelas 'Fortune' está asociada a una reducción en la solubilización y polimerización de las pectinas (Manganaris et al., 2008). Similarmente a lo descrito en melocotón, las pectinas parcialmente degradadas se unen al agua libre formando geles y reduciendo así la jugosidad de la pulpa (Ben Arie y Lavee, 1971; Ben Arie y Sonego, 1980).

## **5 MANTENIMIENTO DE LA CALIDAD POSTCOSECHA DE CIRUELAS**

La refrigeración es la tecnología más utilizada para controlar los procesos de maduración y extender la vida postcosecha de las ciruelas frescas. La temperatura óptima de almacenamiento es de 0°C, aunque esta especie puede tolerar hasta -1°C sin congelarse (Kader y Mitchell, 1989).

En general, los frutos mantienen una buena calidad comercial durante el almacenamiento a 0°C, pero manifiestan un rápido deterioro a temperatura ambiente asociado tanto al ablandamiento excesivo como a la manifestación de síntomas de daños por frío que reducen sensiblemente su vida en estante. Además, cualquier problema en el manejo del frío durante el almacenamiento, el transporte y la comercialización expone a los frutos a un rango de temperaturas superiores a las óptimas que aceleran y agravan la manifestación de los síntomas de daño por frío así como también el ablandamiento (Kader y Mitchell, 1989; Crisosto et al., 1999). Con la finalidad de minimizar este deterioro han surgido algunas tecnologías las cuales proponen algunos cambios en las condiciones de almacenamiento o la aplicación de tratamientos postcosecha.

---

### **5.1. CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO**

---

#### **5.1.1. Manejo de la temperatura**

Como se dijo anteriormente, los daños por frío pueden revertirse mediante la exposición de los frutos a temperaturas más altas, siempre y cuando los síntomas no se hayan manifestado (Bramlage y Mair, 1990). Basado en este concepto, ha sido recomendado el almacenamiento de ciruelas en regímenes duales de temperatura (10

días a 0,5°C seguidos por 15-20 días a 7,5 o 10°C). Si bien su efectividad para reducir la incidencia de daños por frío ha sido demostrada en las variedades 'Songold', 'Santa Rosa' y 'Linda Rosa', no se ha obtenido una respuesta favorable en las variedades 'Angeleno', 'Amarelinha' y 'Autum Giant' (Hartmann et al., 1988; Taylor et al., 1994; Kluge et al., 1997; Salvador y Oteiza, 2002; Candan, 2003a; Malgarim et al., 2005a). Además, se ha demostrado que las fluctuaciones de temperatura reducen el almacenamiento debido al ablandamiento excesivo de la pulpa (Hartmann et al., 1988; Candan, 2003a; Malgarim et al., 2005a). Esta tecnología no ha sido adoptada en nuestra región debido a la disparidad de resultados, al riesgo de excesivo ablandamiento y a su compleja logística, dado que los cambios de temperatura deberían realizarse durante el período de tránsito marítimo.

El preacondicionado de ciruelas durante 24 horas a 20°C previo al almacenamiento a 0°C fue efectivo en reducir los síntomas de transparencia y pardeamiento de la pulpa en algunos cultivares de ciruela (Zoffoli, 2002; Seibert et al., 2008). Sin embargo, ciruelas 'Blackamber' expuestas a 20°C durante 24 horas antes del enfriamiento manifestaron un rápido ablandamiento y una mayor incidencia de pardeamiento de la pulpa que la fruta enfriada inmediatamente (Candan y Calvo, 2005). Esta tecnología también ha dado resultados contradictorios sobre la reducción de daños por frío en melocotones y nectarinas, causando un avance significativo de la maduración y un mayor desarrollo de podredumbres (Ben Arie et al., 1970; Nanos y Mitchell, 1991; Lizana et al., 1998; Zhou et al., 2000; Seibert et al., 2002). Al igual que con el régimen dual de temperaturas, esta tecnología tampoco ha sido adoptada en nuestra región debido a su logística compleja, a la disparidad de resultados y al excesivo ablandamiento provocado en el fruto durante el período de preacondicionado.

### **5.1.2. Modificación atmosférica**

Numerosos trabajos indican que el almacenamiento en atmósferas controladas (AC) con altos niveles de CO<sub>2</sub> (10-15%) retrasa la maduración y la aparición de daños por frío en melocotones y nectarinas (Mitcham et al., 1994; Mardones, 1996; Crisosto et al., 1997; Retamales et al., 2000; Candan y Romero, 2006). Aunque el uso de AC no ha sido ampliamente estudiado en ciruelas, algunos resultados indican que los frutos de las variedades 'Laetitia', 'Casselman' y 'Songold' mantienen una mejor calidad y presentan menor incidencia de transparencia en pulpa bajo condiciones de 3% O<sub>2</sub> y 5% CO<sub>2</sub> (Truter et al., 1994). En otro estudio, una composición atmosférica de 1,8% O<sub>2</sub> y 2,5% CO<sub>2</sub> redujo el ablandamiento de ciruelas 'Angeleno' (Menniti et al., 2006).

Asimismo, el almacenamiento bajo 3% O<sub>2</sub> y 2-8% CO<sub>2</sub> redujo la incidencia de daños por frío en ciruelas 'Red Rosa' (Sive y Resnizky, 1979). A pesar de estos beneficios, el uso de la AC no ha sido adoptado en nuestra región para el almacenamiento de ciruelas ya que los frutos de calidad superior tienen por destino la exportación inmediata en fresco, con lo cual no se justifica la puesta en régimen de una cámara en el lugar de origen. En este sentido, se ha propuesto el uso de contenedores de AC para el transporte marítimo de ciruelas, pero esta tecnología no fue adoptada por el sector exportador debido a los elevados costos de contratación.

El almacenamiento de ciruelas en atmósferas modificadas (AM) también ha sido poco estudiado. Si bien el principal beneficio del uso de esta tecnología reside en la reducción de la pérdida de peso de los frutos (Kluge et al., 1996; 1999; Plich, 1999; Malgarim et al., 2005b), algunos autores han observado que la modificación atmosférica dentro del envase plástico ayuda a retrasar la pérdida de firmeza y los cambios de color de la epidermis en distintas variedades de ciruelas (Couey, 1960, 1965; Crouch, 1998; Candan, 2002). Sin embargo, su efecto sobre los daños por frío ha sido contradictorio, observándose una reducción del pardeamiento de la pulpa en ciruelas 'Nubiana' pero un incremento de la transparencia de la pulpa en ciruelas 'Laetitia' (Couey, 1965; Crouch, 1998). Es muy difícil predecir los resultados del uso de la AM ya que el éxito depende de las concentraciones de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> que se establezcan dentro del envase, las cuales son muy variables y dependen tanto de la tasa respiratoria de los frutos como de las características de permeabilidad del film a los gases y del tipo de cerrado del envase (Flores et al., 2004). Además, debe tenerse en cuenta que si no se logra una suficiente modificación atmosférica, la elevada humedad relativa en el interior de los envases puede ocasionar pérdidas importantes debidas al desarrollo de podredumbres (Couey, 1960, 1965; Crouch, 1998). Debido a ello, la mayoría de los empaques de nuestra región utilizan bolsas de polietileno de baja densidad (20μ - 25μ) macroperforadas.

---

## 5.2. TRATAMIENTOS POSTCOSECHA

---

### 5.2.1. Tratamientos con poliaminas

Las poliaminas (putrescina, espermidina y espermita) presentan una acción antisenescente como consecuencia de su capacidad de unirse a los compuestos aniónicos de la membrana celular y de su capacidad de captar radicales libres. Asimismo, se conoce que los daños por frío están relacionados con la pérdida de la

integridad de la membrana celular, con lo cual las poliaminas podrían tener un rol en la reducción de estos desórdenes (Serrano et al., 1996). Además, la SAM participa como dadora de grupos propilamino en la síntesis de poliaminas, lo cual puede reducir la síntesis de etileno debido a la competencia por este precursor en común (Lelièvre et al., 1997; Tabor y Tabor, 1984). La aplicación postcosecha de putrescina redujo el ablandamiento y la producción de etileno durante el almacenamiento a 20°C de 4 variedades de ciruela (Serrano et al., 2003). Esta misma poliamina también retrasó el ablandamiento de ciruelas 'Angelino' durante el almacenamiento a 0°C debido a una reducción de la producción de etileno y de la actividad de las enzimas implicadas en su síntesis (ACS y ACO), pero también a la inhibición de las enzimas ligadas al ablandamiento del fruto (PE, EGasa, endo-PG y exo-PG) (Khan et al., 2007). La aplicación de espermidina resultó ser efectiva en reducir la producción de etileno y la respiración en ciruelas, ayudando a mantener la firmeza del fruto (XiaoLin et al., 1995). La aplicación de poliaminas en postcosecha mediante inmersión es una tecnología sencilla que ha mostrado tener buenos resultados. Sin embargo, hasta el momento, dicho tratamiento no se encuentra registrado en Argentina para su uso comercial en frutas frescas.

### **5.2.2. Tratamientos térmicos**

Los tratamientos térmicos con agua o aire a altas temperaturas han demostrado ser efectivos en reducir los daños por frío en diversas especies (Lurie, 1998). Algunos trabajos realizados con ciruelas indican que estos tratamientos provocan un aumento en los niveles de poliaminas, reduciendo la producción de etileno y la incidencia de daños por frío en la variedad 'Friar' (Abu-Kpawoh et al., 2002). Valero et al. (2002) también encontraron un mayor contenido de espermidina unida a la pared en ciruelas 'Black Star' expuestas a tratamientos térmicos lo que favoreció la estabilidad celular. Se mostró finalmente que tanto los tratamientos térmicos como la aclimatación a bajas temperaturas inducen una mayor tolerancia al frío en ciruelas debido a que incrementan la expresión de proteínas de choque térmico (Sun et al., 2010).

### **5.2.3. Tratamientos con 1-metilciclopropeno**

El 1-metilciclopropeno (1-MCP) es un inhibidor de la acción del etileno en los tejidos vegetales, que actúa uniéndose irreversiblemente a los receptores específicos del etileno (Blankenship y Dole, 2003). Se ha demostrado en diferentes estudios que el

tratamiento con 1-MCP es efectivo en reducir la tasa de producción de etileno y, por lo tanto, el ablandamiento, la pérdida de acidez y el desarrollo de color en diversas variedades de ciruela (Skog et al., 2001; Dong et al., 2002; Candan, 2003b; Martínez-Romero et al., 2003; Salvador et al., 2003a, b; Menniti et al., 2004). Sin embargo, el efecto de este tratamiento sobre los daños por frío no ha sido estudiado con profundidad hasta el momento. Los primeros trabajos realizados en nuestra región han sido favorables y han permitido el registro de este producto para su uso en ciruelas, peras y manzanas en Argentina. El sector empacador y exportador de ciruelas ha mostrado un creciente interés en la adopción de esta tecnología, lo cual demanda un mayor conocimiento de los problemas y beneficios de su uso como así también un ajuste de la misma a la logística comercial. En este contexto, se han planificado y llevado a cabo los trabajos presentes en esta tesis.

## **6 EL 1-METILCICLOPROPENO (1-MCP)**

---

### **6.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y COMERCIALES DEL 1-MCP**

---

En condiciones ambientales normales, el 1-MCP es un gas. Para su comercialización, se desarrolló una formulación en polvo, en la cual cada molécula de ingrediente activo se encuentra atrapada en una  $\alpha$ -ciclodextrina. Al mezclarse el polvo con agua, la  $\alpha$ -ciclodextrina se solubiliza y el 1-MCP se libera en el aire en forma de gas. Para que el tratamiento sea efectivo, debe llevarse a cabo durante varias horas en un espacio herméticamente cerrado.

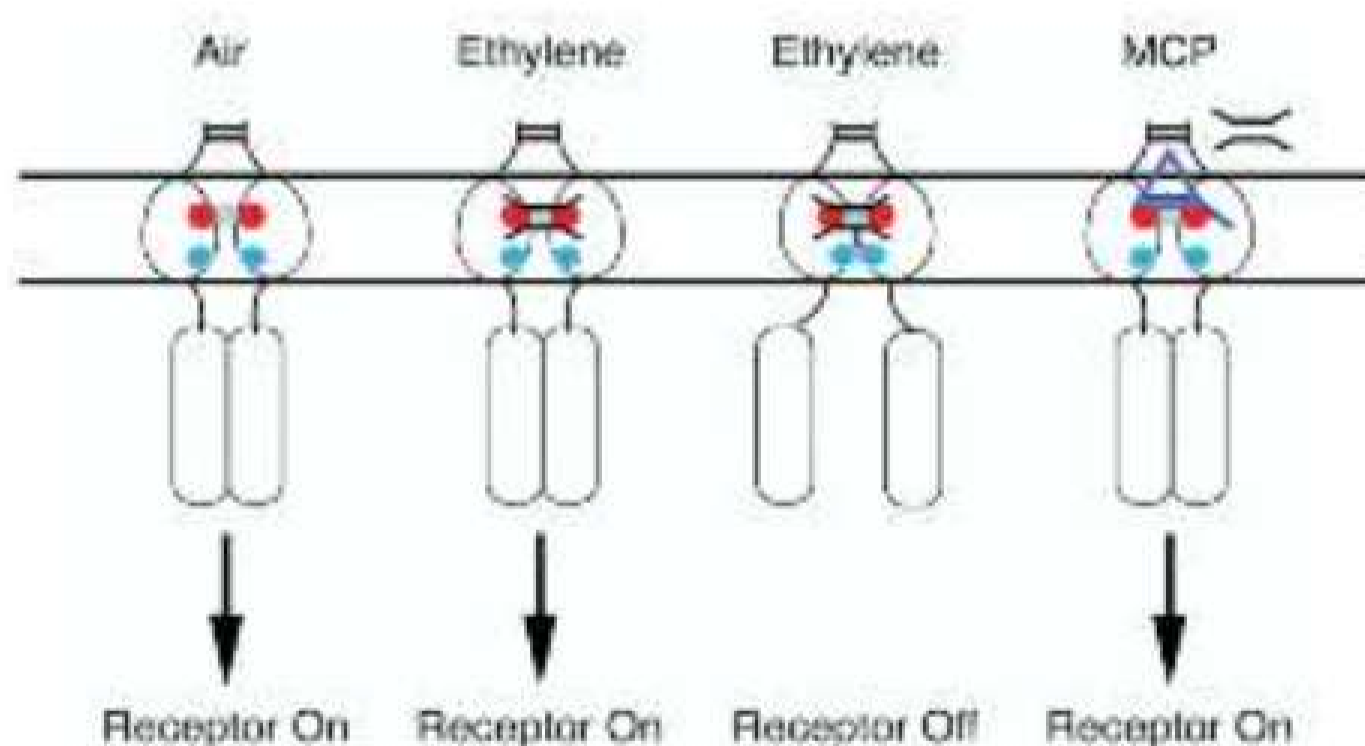
El 1-MCP tiene un modo de acción no tóxico, deja residuos indetectables y es efectivo a dosis muy bajas. No afecta la salud del hombre ni de los animales, ni supone un riesgo para el medio ambiente ya que su uso está aprobado solo en espacios cerrados y se diluye rápidamente en el aire (EPA, 2008).

La aplicación comercial a productos comestibles fue llevada a cabo inicialmente por AgroFresh Inc., una compañía subsidiaria de Rohm & Haas Company (Spring House, PA), bajo el nombre comercial SmartFresh®. En la actualidad el registro está aprobado para su uso comercial en más de 26 países: Argentina, Australia, Austria, Bélgica, Brasil, Canadá, Chile, China, Costa Rica, Francia, Alemania, España, Estados Unidos, Guatemala, Holanda, Irlanda, Israel, Italia, México, Nueva Zelanda, Nicaragua, Reino Unido, Sud África, Suiza, Turquía y la Unión Europea (SmartFresh®, 2008).

## 6.2. ACCIÓN FISIOLÓGICA DEL 1-MCP

Cuando una molécula de etileno se une momentáneamente a los receptores específicos se produce un cambio en la conformación de los mismos, o inactivación, que resulta en una serie de cambios asociados a la maduración. En cambio, cuando la molécula de 1-MCP se une a los receptores específicos, el etileno no puede acceder a los receptores, los cuales se mantienen en su configuración activa, la cual impide la puesta en marcha de los procesos de maduración (Figura 3).

El 1-MCP tiene un enorme potencial para extender la vida comercial de diversos productos vegetales, dado que reduce la producción de etileno y retrasa los cambios relacionados con la maduración y senescencia. Se ha demostrado en numerosas especies, que el 1-MCP mantiene la firmeza y la acidez titulable, y retrasa los cambios en la coloración de la epidermis del fruto (Blankenship y Dole, 2003). En cambio, el efecto del 1-MCP sobre el desarrollo de daños por frío es inconsistente y varía de una especie a otra. Mientras que el 1-MCP reduce los síntomas de pardeamiento interno en piña (Selvarajah et al., 2001) y palta (Pesis et al., 2002), se ha observado que incrementa la severidad de este síntoma en nectarinas (Dong et al., 2001b) y en melocotones almacenados a 5°C (Fan et al., 2002). El efecto del 1-MCP sobre los daños por frío en ciruelas ha sido muy poco estudiado, pero hay antecedentes que indican una menor incidencia de transparencia de pulpa en ciruelas 'Fortune' tratadas con 1-MCP (Menniti et al., 2006).



**Figura 3.** Cambios de conformación de los receptores. En aire, el receptor mantiene su conformación 'activa' la cual inhibe los procesos de maduración. Cuando una molécula de etileno se une momentáneamente al receptor y luego lo libera, provoca el cambio de conformación desde el estado 'activo' al estado 'inactivo', permitiendo que se dispare la señal para la maduración. El 1-MCP se une irreversiblemente al receptor manteniéndolo en estado 'activo' e impidiendo que se una el etileno (Binder y Bleeker, 2003).

---

### 6.3. FACTORES QUE AFECTAN LA RESPUESTA AL 1-MCP

---

La respuesta de los frutos al tratamiento con 1-MCP depende de un conjunto de factores entre los que se pueden citar los siguientes:

**Especie y cultivar:** La respuesta al 1-MCP varía mucho con el tipo de producto, incluso entre diferentes frutos climatéricos (Watkins, 2006). Dentro de las especies de frutos de hueso, la aplicación de 1-MCP ha mostrado resultados inconsistentes para melocotones y nectarinas (Girardi et al., 2003; Kluge et al., 2002; Zóffoli et al., 2002). En cambio, este tratamiento es muy efectivo en ciruelas, especie en la que reduce la producción de etileno y retrasa el proceso de maduración, siendo esta respuesta dependiente del cultivar (Abdi et al., 1998; Skog et al., 2001, 2003; Martínez-Romero et al., 2003).

**Temperatura:** La aplicación de 1-MCP a bajas temperaturas puede resultar menos efectiva en algunos productos (Blankenship y Dole, 2003). Sin embargo, un ensayo realizado en ciruelas 'Angelino' demostró que el tratamiento con  $0,50 \mu\text{L L}^{-1}$  de 1-MCP fue tan efectivo a temperatura ambiente como a bajas temperaturas (Menniti et al., 2004).

**Dosis de aplicación:** Las concentraciones efectivas de 1-MCP para bloquear la acción del etileno varían ampliamente según el producto. Mientras que la aplicación de  $0,0025 \mu\text{L L}^{-1}$  es suficiente en clavel (*Dianthus caryophyllus* L.), se requieren hasta  $12 \mu\text{L L}^{-1}$  en brócoli (*Brassica oleracea* L.) (Sisler et al., 1996; Able et al., 2002). Las dosis más frecuentemente aplicadas en ciruelas varían entre  $0,25$  y  $0,75 \mu\text{L L}^{-1}$ . En ciruelas 'Laetitia' las dosis saturantes oscilan entre  $0,50$  y  $1 \mu\text{L L}^{-1}$  (Argenta et al., 2003). La respuesta al 1-MCP fue dependiente de la dosis aplicada en ciruelas 'Santa Rosa' pero no en la variedad 'Golden Japan' ni en 'Larry Ann' (Valero et al., 2005; Candan, 2005).

**Duración del tratamiento:** Jiang et al. (1999) observaron que existe una relación tiempo/temperatura, en el sentido de que a mayores concentraciones de 1-MCP se requieren tratamientos más cortos. En la mayoría de los estudios realizados con ciruelas, la duración del tratamiento osciló entre 12 a 24 horas.

**Demora en la aplicación:** Se ha demostrado que, en general, cuanto más perecedero es el producto, menor es el tiempo que tendría que pasar entre la cosecha y el tratamiento con 1-MCP (Blankenship y Dole, 2003). Así, el 1-MCP debe ser aplicado inmediatamente después de la cosecha en brócoli (Able et al., 2002). En bananas tratadas con etileno, la fruta deber ser expuesta al 1-MCP dentro de las 24



horas para retrasar la maduración (Jiang et al., 1999). Hasta la fecha, no se han publicado trabajos que estudien la relación de este factor con la respuesta al tratamiento en ciruelas japonesas (*Prunus salicina* L.).

**Estado de madurez del fruto:** En general, la fruta más madura tiene una menor respuesta al tratamiento con 1-MCP (Watkins, 2006), tal como se ha demostrado en damascos, bananas y manzanas (Fan et al., 2000; Harris et al., 2000; Calvo, 2002). En ciruelas europeas (*Prunus domestica* L.) se ha estudiado el efecto de la madurez sobre la efectividad del tratamiento con 1-MCP (Valero et al., 2003). Sin embargo, no hay trabajos de este tipo realizados en ciruelas japonesas (*Prunus salicina* L.), especie a la cual pertenecen las variedades más difundidas para el consumo en fresco.

**Otros factores:** Se ha constatado que los envases que facilitan la movilidad del 1-MCP a través de los frutos mejoran la respuesta del 1-MCP en ciruelas (Valero et al., 2004). Asimismo, la eficacia del 1-MCP en peras se reduce considerablemente cuando los frutos fueron tratados en 'bines' de madera mojados, debido a la absorción de producto por este material (Calvo y Sozzi, 2008).

## 7 REFERENCIAS

- Abdi, N., Holford, P., Mc Glasson, W.B., 1997a.** *Effects of harvest maturity on the storage life of Japanese type plums. Australian Journal of Experimental Agriculture, 37: 391-397.*
- Abdi, N., Holford, P., Mc Glasson, W.B., Mizrahi, Y. 1997b.** *Ripening behavior and responses to propylene in four cultivars of Japanese type plums. Postharvest Biology and Technology, 12: 21-34.*
- Abdi, N., Mc Glasson, W.B., Holford, P., Williams, M., Mizrahi, Y. 1998.** *Responses of climacteric and suppressed climacteric plums to treatment with propylene and 1-methylcyclopropene. Postharvest Biology and Technology, 14: 29-39.*
- Abeles, F.B., Morgan, P.W., Saltveit, M.E. 1992.** *Ethylene in plant biology. 2nd edition. Academic Press, San Diego, California.*
- Able, A.J., Wong, L.S., Prasad, A., O'Hare, T.J. 2002.** *1-MCP is more effective on a floral brassica (*Brassica oleracea* var. *italica* L.) than a leafy brassica (*Brassica rapa* var. *chinensis*). Postharvest Biology and Technology, 26: 147-155.*
- Abu-Kpawoh, J. C., Xi, Y. F., Zhang, Y., Z., Jin, Y. F. 2002.** *Polyamine accumulation following hot-water dips influences chilling injury and decay in 'Friar' plum fruit. Journal of Food Science, 67 (7): 2649-2653.*
- Amorim, L., Martins, M.C., Lourenço, S.A., Gutierrez, A.S.D., Abreu, F.M., Gonçalves, F.P. 2008.** *Stone fruit injuries and damage at the wholesale market of Sao Paulo, Brazil. Postharvest Biology and Technology, 47: 353-357.*
- Argenta, L.C., Krammes, J.G., Megguer, C.A., Amarante, C.V.T., Mattheis, J. 2003.** *Ripening of 'Laetitia' plums following harvest and cold storage as affected by inhibition of ethylene action. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 38 (10): 1139-1148.*
- Behrend, H., Barría, J., Benítez, C. 1996.** *Evaluación de nuevos cultivares de duraznos, nectarinas y ciruelas. INTA-GTZ. General Roca, Río Negro, Argentina.*
- Ben Arie, R., Lavee, S., Guelfat Reich, S. 1970.** *Control of woolly breakdown of 'Elberta' peaches in cold storage, by intermittent exposure to room temperature. Journal of the American Society of Horticultural Science, 95 (6): 801-803.*
- Ben Arie, R., Lavee, S. 1971.** *Pectic changes occurring in 'Elberta' peaches suffering from woolly breakdown. Phytochemistry, 10: 531-538.*

- Ben Arie, R., Sonogo, L. 1980.** *Pectolytic enzyme activity involved in woolly breakdown of stored peaches. Phytochemistry, 19: 2553-2555.*
- Blankenship, S., Dole, J.M. 2003.** *1-Methylcyclopropene: a review. Postharvest Biology and Technology, 28: 1-25.*
- Bleeker, A.B., Kende, H. 2000.** *Ethylene: A gaseous signal molecule in plants. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 16: 1-18*
- Binder, B.M., Bleeker, A.B., 2003.** *A model for ethylene receptor function and 1-methylcyclopropene action. Acta Horticulturae, 628: 177-187.*
- Burg, S.P., Burg, E.A., 1967.** *Molecular requirements for the biological activity of ethylene. Plant Physiology, 42: 144-152.*
- Bouzayen, M., Latché, A., Pech, J.C., Marigo, G. 1989.** *Carrier mediated uptake of 1-(malonylamino) cyclopropane 1-carboxylic acid in vacuoles isolated from Catharanthus roseus cells. Plant Physiology, 91: 1317-1322.*
- Bramlage, W.J., Mair, S. 1990.** *Chilling injury of crops of temperate origin. En: Wang, C.Y. (Ed.) Chilling injury of horticultural crops. Chapter 3: 37-50. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.*
- 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. Revista de Investigaciones Agropecuarias, 3: 9-24.*
- Calvo, P. 2004.** *Fichas varietales de duraznos, nectarines y ciruelas. Ed. INTA, Argentina.*
- Calvo, G., Sozzi, G. 2008.** *Effectiveness of 1-MCP treatments on 'Bartlett' pears as influenced by the cooling method and the bin material. Postharvest Biology and Technology, 51: 49-55.*
- Candan, A.P. 2002.** *Tecnología de empaque en ciruelas. Rompecabezas Tecnológico, Año 8, N° 32: 16-17.*
- Candan, A.P. 2003a.** *Conservación de Larry Ann y Autumn Giant: dos estrategias para ciruelas japonesas. Rompecabezas Tecnológico, Año 9, N° 37: 6-7.*
- Candan, A.P. 2003b.** *Postcosecha de frutos de carozo: Efectos de la aplicación de 1-MCP en ciruelas. Rompecabezas Tecnológico, Año 9, N° 39: 30-35.*
- Candan, A.P. 2004a.** *Daños por frío en frutas de carozo: Conociendo al enemigo. Rompecabezas Tecnológico, Año 10, N° 42: 26-32.*

- Candan, A.P. 2004b.** *Estimación del potencial de conservación de ciruelas cv. Blue Giant. Informe Técnico, INTA Alto Valle.*
- Candan, A.P. 2005.** *Efecto de las dosis de 1-metilciclopropeno sobre la madurez y calidad de ciruelas (Prunus salicina) cv. 'Larry Ann' conservadas a 0 °C. XII Congreso Latinoamericano – XXVIII Congreso Argentino de Horticultura. 6, 7 y 8 de septiembre de 2005. pg. 94*
- Candan, A.P., Calvo, G. 2005.** *Treatment with 1-MCP may reduce chilling injury in cold stored 'Blackamber' plums. 9th International Controlled Atmosphere Research Conference. July 5-10, 2005, East Lansing, Michigan, USA. Pg. 29.*
- Candan, A.P., Romero, S. 2006.** *Uso de atmósferas controladas para el control de daños por frío en duraznos y nectarines. Fruticultura y Diversificación. Año 12, N° 51: 42-47.*
- Candan, A.P., Salvador, M.E., Teixé, M. 2005.** *Cosecha y postcosecha de frutos de carozo. En: Villareal, P. y Santagni, A. (Coord.). Pautas Tecnológicas: Frutales de carozo. Manejo y análisis económico-financiero. Ed: INTA, Argentina.*
- CAR. 2005.** *Censo Agrícola Rionegrino. Secretaría de Fruticultura, Gobierno de la provincial de Rio Negro. Argentina.*
- CNA. 2002.** *Informe sobre los resultados del Censo Nacional Agropecuario 2002. Tercera Parte. Indicadores analizados: Superficie implantada en primera y segunda ocupación. Cultivos Industriales y Frutales. www.sagpya.mecon.gov.ar (mayo, 2009)*
- Couey, H.M. 1960.** *Effects on temperature and modified atmosphere on the storage life, ripening behaviour and dessert quality of 'Eldorado' plums. Journal of the American Society of Horticultural Science, 75: 207-215.*
- Couey, H.M. 1965.** *Modified atmosphere storage of 'Nubiana' plums. Journal of the American Society of Horticultural Science, 86: 166-168.*
- Crisosto, C.H., Crisosto, G.M., Echeverria, G, Puy, J. 2007.** *Segregation of plum and pluot cultivars according to their organoleptic characteristics. Postharvest Biology and Technology, 44: 271-276.*
- Crisosto, C.H.; Garner, D.; Crisosto, G. 1997.** *Evaluating the relationship between controlled atmosphere storage, peach fruit size and internal breakdown. Perishables Handling Newsletter. N°90: 7-8.*
- Crisosto, C.H., Garner, D., Crisosto, G.M. 2004.** *Increasing 'Blackamber' plum (Prunus salicina Lindell) consumer acceptance. Postharvest Biology and Technology, 34: 237-244.*

- Crisosto, C., Mitchell, G.F., Ju, Z. 1999.** *Susceptibility to chilling injury of peach, nectarine and plum cultivars grown in California. HortScience, 34 (6): 1116-1118.*
- Crisosto, C. H., Slaughter, D., Garner, D. Boyd, J. 2001.** *Stone fruit critical bruising thresholds. Journal American Pomological Society, 55(2): 76-81.*
- Crouch, I.J. 1998.** *Effect of modified atmosphere packaging (MAP) on control of shrivrel and overall quality of 'Laetitia' plums. Acta Horticulturae, 464: 393-396.*
- Dodd, M.C. 1984.** *Internal breakdown in plums. Deciduous Fruit Grower, 34: 355-356.*
- Dong, L., Lurie, S., Zhou, H. W. 2002.** *Effect of 1-methylcyclopropene on ripening of 'Canino' apricots and 'Royal Zee' plums. Postharvest Biology and Technology, 24: 135-145.*
- Dong, L., Zhou, H.W., Sonogo, L., Lers, A., Lurie, S. 2001a.** *Ripening of Red Rosa plums: effect of ethylene and 1-methylcyclopropene. Australian Journal of Plant Physiology, 28: 1039-1045.*
- Dong, L., Zhou, H.W., Sonogo, L., Lers, A., Lurie, S. 2001b.** *Ethylene involvement in the cold storage disorder of 'Flavortop' nectarine. Postharvest Biology and Technology, 23: 105-115.*
- Donoso, G.C., Galdames, J.O. 1973.** *Efectos del grado de madurez, período de almacenaje y sistemas de embalaje sobre la calidad de ciruelas de exportación. Santiago de Chile: Convenio CORFO-Enafri, 150 p (Publicación Técnica 6)*
- EPA. 2008.** *Environmental Protection Agency. www.epa.gov (mayo, 2009).*
- Fan, X. Argenta, L., Mattheis, J.P. 2000.** *Inhibition of ethylene action by 1-methylcyclopropene prolongs storage life of apricots. Postharvest Biology and Technology, 20: 135-142.*
- Fan, X., Argenta, L., Mattheis, J.P. 2002.** *Interactive effects of 1-MCP and temperature on 'Elberta' peach quality. HortScience, 37: 134-138.*
- Flores, F.B., Martínez-Madrid, M.C., Ben Amor, M., Pech, J.C., Latché, A., Romojaro, F., 2004.** *Modified atmosphere packaging confers adicional chilling tolerante on ethylene-inhibited cantaloupe Charentais melon fruit. European Food Research and Tecnology, 219: 614-619.*
- Foyer, C.H., Descourvières, P., Kunert, K.L. 1994.** *Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants. Plant, Cell and Environment, 17: 507-523.*

- FunBaPa, 2008.** *Egresos de otras frutas y hortalizas en fresco. Estadísticas.* [www.funbapa.org.ar](http://www.funbapa.org.ar) (mayo, 2009).
- Gil, M.I., Tomás-Barberán, F.A., Hess-Pierce, B., Kader, A.A. 2002.** *Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C content of nectarine, peach and plum cultivars from California. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 4976-4982.*
- Girardi, C.L., Martins, C.R., Parussolo, A., Tomasi, R.J., Corrent, A.R., Rombaldi, C.V. 2003.** *Effect of the application of 1-methylcyclopropene on quality of 'Chiripá' peaches (Prunus persica L.) during storage. Revista Brasileira Agrociencia, 9 (2): 157-161.*
- Gong, Y., Toivonen, P.M.A., Lau, O.L., Wiersma, P.A. 2001.** *Antioxidant system level in 'Breaburn' apple is related to its browning disorder. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 42: 259-264.*
- Hariyadi, P., Parkin, K.L. 1991.** *Chilling-induced oxidative stress in cucumber fruits. Postharvest Biology and Technology, 1: 33-45.*
- Harris, D.R., Seberry, J.A., Wills, R.B.H., Spohr, L.J. 2000.** *Effect of fruit maturity on efficiency of 1-methylcyclopropene to delay the ripening of banana. Postharvest Biology and Technology 20, 303-308.*
- Hartmann, P.E.O., De Kock, V.A., Taylor, M.A. 1988.** *Picking maturities and cold storage requirements of 'Songold' plums. Deciduous Fruit Grower, 38: 161-163.*
- Hoehn, E., Gasser, F., Naepflin, B., Ladner, J. 2005.** *Consumer expectations and soluble solids, acidity and firmness of plums (Prunus domestica 'Cacaks Beauty'). Acta Horticulturae, 682: 665-672.*
- IASCAV. 1993.** *Reglamentaciones de frutas frescas no cítricas para el mercado interno y la exportación. Instituto Argentino de Sanidad y Calidad Vegetal. Secretaría de Agricultura Ganadería y Pesca de la Nación, Buenos Aires, Argentina.*
- IDR. 2005.** *Censo de productores de ciruela para industria. Instituto de Desarrollo Rural, Mendoza, Argentina. www.idr.org.ar* (mayo, 2009)
- Jiang, Y., Joyce, D.C., Macnish, A.J. 1999.** *Responses of banana fruit to treatment with 1-methylcyclopropene. Plant Growth Regulation, 28: 77-82.*
- Kader, A., Mitchell, F.G. 1989.** *Postharvest Physiology. En: La Rue, J. H.; Johnson, R. S. (Eds.). Peaches, plums and nectarines: Growing and handling for fresh market. University of California, Publicación 3331.*

- Khan, A.S., Singh, Z. 2007.** *1-MCP regulates ethylene biosynthesis and fruit softening during ripening of 'Tegan Blue' plum. Postharvest Biology and Technology, 43: 298-306.*
- Khan, A.S., Singh, Z. Abbasi, N.A. 2007.** *Pre-storage putrescina application suppresses ethylene biosynthesis and retards fruit softening during low temperature storage in 'Angelino' plum. Postharvest Biology and Technology, 46: 36-46.*
- Kim, D.O., Jeong, S.W., Lee, C.Y. 2003.** *Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. Food Chemistry, 81: 321-326.*
- Kluge, R. A., Bilhalva, A. B., Cantillano, R.F.F. 1996.** *Cold storage of 'Reubenel' plums (Prunus salicina Lindl.): effects of ripening stages and polyethylene packing. Scientia Agricola, 53 (2-3): 226-231.*
- Kluge, R.A., Bilhalva, A.B, Cantillano, R.F.F. 1999.** *Influence of ripening stage and polyethylene packaging on cold storage of plum. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 34 (3): 323-329.*
- Kluge, R., Cantillano, R.F.F., Bilhalva, A.B. 1997.** *Colapso de polpa em ameixas 'Santa Rosa' armazenadas em diferentes regimes de temperatura. Revista Brasileira de Agrociencia, 3 (3): 125-130.*
- Kluge, R., Jacomino, A.P. 2002.** *Shelf life of peaches treated with 1-methylcyclopropene. Scientia Agricola, 59: 69-72.*
- Kruger, L., Cook, N., Holcroft, D. M. 2003.** *Quality of Japanese plums as influenced by time of harvest and rate of ethylene production. Acta Horticulturae, 600: 453-456.*
- Lee, J.C., Lee, Y. B. 1980.** *Physiological study on coloration of plum fruits. I. Effect of ethephon on fruit composition and anthocyanin development in 'Santa Rosa' plum (Prunus salicina). Journal of the Korean Society for Horticultural Science, 21 (1): 36-41.*
- Lelièvre, J.M., Latché, A., Jones, B., Bouzayen, M., Pech, J.C. 1997.** *Ethylene and fruit ripening. Physiologia Plantarum, 101: 727-739.*
- Lill, R.E., O'Donogue, E.M., King, G.A. 1989.** *Postharvest physiology of peaches and nectarines. Horticultural Reviews, 11: 413-452.*
- Lizana, L.A., Fell, J.C., Luchsinger, L.E. 1998.** *Influence of postharvest temperature and controlled atmosphere conditioning on O'Henry peach storage disorders. Acta Horticulturae, 464: 527.*

- Lurie, S. 1998.** *Review: Postharvest heat treatments. Postharvest Biology and Technology, 14: 257–269*
- Lyons, J.M. 1973.** *Chilling injury in plants. Annual Review of Plant Physiology, 24: 445-466.*
- Malgarim, M.B., Cantillano, F.R.F., Treptow, R de O., Souza, E.L., Coutinho, E.F. 2005a.** *Stage of maturation and temperature variation during the storage on postharvest quality of plums cv. Amarelinha. Revista Brasileira de Fruticultura, 27 (1): 29-35.*
- Malgarim, M.B., Cantillano, F.R.F., Treptow, R de O., Souza, E.L., Coutinho, E.F. 2005b.** *Modified atmosphere on postharvet quality of plums cv. 'Reubennel'. Revista Brasileira de Fruticultura, 27 (3): 373-378.*
- Manganaris, G.A., Vicente, A.R., Crisosto, C.H., Labavich, J.M. 2008.** *Cell wall modifications in chilling injured plum fruits (Prunus salicina). Postharvest Biology and Technology, 48: 77-86.*
- Mardones, C. 1996.** *Atmósfera controlada para frutos de carozo. Estrategias tecnológicas de postcosecha para frutos de carozo. Pontífica Univ. Católica de Chile. CapVI: 5-15.*
- Martínez-Romero, D., Dupille, E., Guillén, F., Valverde, J.M., Serrano, M., Valero, D. J. 2003.** *1- methylcyclopropene increases storability and shelf life in climacteric and nonclimacteric plums. Journal of Agricultural Food Chemistry, 51 (16): 4680-4686.*
- Mc Glasson, W.B. 1985.** *Ethylene and fruit ripening. HortScience, 20 (1):51-54.*
- Menniti, A.M., Gregori, R, Donati, I., 2004.** *1-Methylcyclopropene retards postharvest softening of plums. Postharvest Biology and Technology, 31: 269-275.*
- Menniti, A.M., Donati, I., Gregori, R. 2006.** *Responses of 1-MCP application in plums stored under air and controlled atmospheres. Postharvest Biology and Technology, 39: 243-246.*
- Mitcham, E., Crisosto, C., Michailides, T. 1994.** *Evaluation of the effect of pre storage heating and controlled atmosphere storage on development of mealiness in peaches and nectarines. Central Valley Postharvest Newsletter, 3 (1): 18-19.*
- Mitchell, F.G., Kader, A. 1989.** *Factors affecting deterioration rate. En: La Rue, J. H., Johnson, R. S. (Eds.). Peaches, plums and nectarines: Growing and handling for fresh market. Publicación 3331, University of California.*



- Murata, T. 1990.** *Relation of chilling stress to membrane permeability.* En: Wang, C.Y. (Ed.) *Chilling injury of horticultural crops. Chapter 12: 201-210.* CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.
- Nanos, G.D.; Mitchell, F.G. 1991.** *High temperature conditioning to delay internal breakdown development in peaches and nectarines.* *HortScience*, 26 (7): 882-885.
- Neri, F. 2003.** *Influence of maturity stage and ripening on sensory quality of peaches, nectarines and plums.* *Proceedings of Eufirin Workshop on Fruit Quality, Bologna, Italy: 141-142.*
- Pesis, E., Ackerman, M., Ben-Arie, R., Feygenberg, O., Feng, X., Apelbaum, A., Goren, R., Prusky, D. 2002.** *Ethylene involvement in chilling injury symptoms of avocado during cold storage.* *Postharvest Biology and Technology*, 24 (2): 171-181
- Plich H., 1999.** *The effect of storage conditions and date of picking on storability and quality of some plum (Prunus doméstica L.) cultivars.* *Acta Horticulturae*, 485: 301-307.
- Reglamento CE N°848, 2000.** *Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 28 de abril, 2000: 9-13.*
- Retamales, J., Defilippi, B., Pérez, M. 2000.** *Atmósfera controlada y modificada.* *Revista Tierra Adentro. INIA. N°34: 10-11.*
- Saltveit, M.E., Morris, L.L. 1990.** *Overview on chilling injury of horticultural crops.* En: Wang, C.Y. (Ed.) *Chilling injury of horticultural crops. Chapter 1: 3-16.* CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.
- Salvador, A., Cuquerella, J., Martínez Jávega, J.M. 2003a.** *1-MCP treatment prolongs postharvest life of 'Santa Rosa' plums.* *Journal of Food Science*, 68 (4): 1504-1510.
- Salvador, A., Cuquerella, J., Úbeda, S. 2003b.** *1-methylcyclopropene delays ripening process of 'Black Diamond' plums.* *Acta Horticulturae*, 599: 59-63.
- Salvador, M.E., Oteiza, E. 2002.** *Aplicación de 1-MCP en ciruelas var. 'Linda Rosa', 'Larry Ann' y 'Angeleno'.* *Simiente*. 72: 91-92.
- Selvarajah, S., Bauchot, A. D., John, D. 2001.** *Internal browning in cold storage pineapples is suppressed by a postharvest application of 1-MCP.* *Postharvest Biology and Technology*, 23: 167-170
- Seibert, E., Luchsinger, L., Bender, R.J. 2002.** *Efecto del acondicionamiento previo al almacenaje refrigerado en duraznos 'Late Nos'.* *53 Congreso Agronómico. Simiente* 72: pp.4.

- Seibert, E., González, S., Orellana, A., Luchsinger, L.; Bender, R.J. 2008.** *Efecto del acondicionado previo al almacenaje refrigerado sobre la calidad de ciruelas 'Constanza'.* *Bragantia, Campinas*, 67 (1): 233-242.
- Serrano, M., Martínez-Madrid, M.C., Martínez, G., Riquelme, F., Pretel, 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, Guillén, F., Valero, D. 2003.** *Effects of exogenous putrescine on improving shelf life of tour plum cultivars.* *Postharvest Biology and Technology*, 30: 259-271.
- Sive, A., Resnizky, D. 1979.** *Extension of the storage life of "Red Rosa" plums by controlled atmosphere storage.* *Bulletin de l'Institut International du Froid*, 59 (4): 1148
- Sisler E.C., Dupille, V., Serek, M. 1996.** *Effect of 1-methylcyclopropene and methylcyclopropane on ethylene binding and ethylene action on cut carnations.* *Plant Growth Regulation*, 18: 79-86.
- Sisler, E.C., Sereck, M. 1999.** *Compounds controlling the ethylene receptor.* *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 40: 1-7.
- Skog, L.J., Schaefer, B.H., Smith, P.G. 2001.** *1-methylcyclopropene preserves the firmness of plums during postharvest storage and ripening.* *Acta Horticulturae*, 553:171-172.
- Skog, L.J., Schaefer, B.H., Smith, P.G. 2003.** *Effect of ripeness at harvest on response of plums to treatment with 1-methylcyclopropene.* *Acta Horticulturae*, 599: 49-52.
- SmartFresh®. 2008.** *Recomendaciones de uso: ciruelas.* [www.smartfresh.com](http://www.smartfresh.com) (mayo, 2009).
- Sun, J., Chen, J., Kuang, J., Chen, W., Lu, W. 2010.** *Expression of sHSP genes as affected by heat shock and cold acclimation in relation to chilling tolerance in plum fruit.* *Postharvest Biology and Technology*, 55: 91-96.
- Tabor, C.W., Tabor, H. 1984.** *Methionine adenosyltransferase (S-adenosylmethionine syntase) and S-adenosylmethionine decarboxylase.* *Adv Enzimology*, 56: 251-282.
- Taylor M.A., Jacobs G., Rabe E., Dodd M.C. 1993a.** *Physiological factors associated with over-ripeness, internal breakdown and gel breakdown in plums stored at low temperature.* *Journal of Horticultural Science*, 68 (5): 825-830.

- Taylor M. A., Rabe E., Dodd M. C., Jacobs G., 1994.** *Effect of storage regimes on pectolitic enzymes, pectic substances, internal conductivity and gel breakdown in cold stored 'Songold' plums. Journal of Horticultural Science, 69 (3): 527-534.*
- Taylor M. A., Rabe E., Jacobs G., Dodd M. C., 1993b.** *Physiological and anatomical changes associated with ripening in the inner and outer mesocarp of cold stored 'Songold' plums and concomitant development of internal disorders. Journal of Horticultural Science, 68 (6): 911-918.*
- Taylor, M.A., Rabe, E., Jacobs, G., Dodd, M.C. 1995.** *Effect of harvest maturity on pectic substances, internal conductivity, soluble solids and gel breakdown in cold stored 'Songold' plums. Postharvest Biology and Technology, 5: 285-294.*
- Truter, A.B., Combrink, J.C., Von Mollendorf, L.J. 1994.** *Controlled atmosphere storage of plums. Deciduous Fruit Grower, 44: 373-375.*
- Tucker G.A. 1996.** *Introduction. En: Seymour G.B., Taylor J.E. Tucker G.A. (Eds.) Biochemistry of Fruit Ripening. 1-52. Chapman & Hall, Londres.*
- Tsuji, M., Harakawa, M., Komiyama, Y. 1983.** *Journal of Japanese Society of Food Science and Technology, 30 (12): 688-692.*
- Valero, C., Crisosto, C.H., Slaughter, D. 2007.** *Relationship between nondestructive firmness measurements and commercially important ripening fruit stages for peaches, nectarines and plums. Postharvest Biology and Technology, 44: 248-253.*
- Valero, D., Guillén, F., Valverde, J.M., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Serrano, M., 2005.** *1-MCP use on Prunus sp. to maintain fruit quality and to extend shelf life during storage: a comparative study. Acta Horticulturae, 682: 933-940.*
- Valero, D., Martínez-Romero, D., Valverde, J.M., Guillén, F., Serrano, M., 2003.** *Quality improvement and extension of shelf life by 1-methylcyclopropene in plum as affected by ripening stage at harvest. Innovative Food Sciences and Emerging Technologies, 4: 339-348.*
- Valero, D., Martínez-Romero, D., Valverde, J.M., Guillén, F., Castillo, S., Serrano, M., 2004.** *Could the 1-MCP treatment effectiveness in plum be affected by packaging? Postharvest Biology and Technology, 34: 295-303.*
- Valero, D., Perez-Vicente, A., Martínez Romero, D., Castillo, S., Guillén, F., Serrano, M. 2002.** *Plum storability improved after calcium and heat postharvest treatments: role of polyamines. Journal of Food Science, 67 (7): 2571-2575.*
- Wang, C.Y. 1995.** *Effect of temperature preconditioning on catalase, peroxidase and*

- superoxide dismutase in chilled zucchini squash. Postharvest Biology and Technology*, 5: 67-76.
- Wang, K.L.C., Li, H., Ecker, J.R. 2002.** *Ethylene biosynthesis and signaling networks. The Plant Cell*, 14: S131-S151.
- Watkins, C.B. 2006.** *The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. Biotechnology Advances*, 24: 389-409.
- Wills, R., McGlasson, B., Graham, D., Joyce, D. 1998.** *Postharvest. An introduction to the physiology & handling of fruit, vegetables & ornamentals. University of New South Wales, Sydney, Australia.*
- Xiao-Ling, R., Feng-Wang, M., Fei, W. 1995.** *Effect of spermidine on ethylene and respiration of plum. Plant Physiology Communications*, 31 (3): 186-188.
- Yang, S.F., Hoffman, N.E. 1984.** *Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. Annual Reviews of Plant Physiology*, 35: 155-189.
- Yuan-Hui, Z., Jung-Feng, G., Jian-Min, Y., Shu-Tang, Z. 2004.** *Study on the changes of contents of pigments, total phenolics, sugars, and polyphenol oxidase (PPO) activity in the fruit skin of plum cultivars during fruit development. Journal of Fruit Science*, 21 (1): 17-20.
- Zhou, H.W.; Lurie, S.; Lers, A.; Khatchitski, A.; Sonogo, L.; Ben Arie, R. 2000.** *Delayed storage and controlled atmosphere storage of nectarines: two strategies to prevent wooliness. Postharvest Biology and Technology*, 18: 133-141.
- Zauberman, G., Fuchs, Y., Rot, I., Wexler, A. 1988.** *Chilling injury, peroxidase, and cellulase activities in the peel of mango fruit at low temperature. HortScience*, 23 (4): 732-733.
- Zóffoli, J.P., Balbontin, S., Rodríguez, J., Retamales, J., Defilippi, B. 2002.** *Effectiveness of 1-MCP on postharvest deterioration of nectarines and peaches stored at different temperatures. Acta Horticulturae*, 592: 567-572.
- Zoffoli, J.P. 2002.** *Uso de la tecnología SmartFresh™ para extender la calidad postcosecha de manzanas Granny Smith y ciruelas en Chile. Simiente*. 72: 42.
- Zubeldia, H., Villarreal, P. 2004.** *Fruta de carozo: Resumen de precios de la temporada 2004. Rompecabezas Tecnológico, Año 10, N° 43: 14-22.*
- Zuzunaga, M., Serrano, M., Valero, D., Martínez-Romero, Riquelme, F. 2001.** *Responses to ethylene treatments in two plum cultivars. Acta Horticulturae*, 553: 179-180.

## II OBJETIVOS



---

## OBJETIVOS

---

El objetivo general de la presente tesis fue mantener la calidad postcosecha y mejorar el almacenamiento frigorífico de los frutos de distintas variedades de ciruelas japonesas mediante la aplicación de tratamientos con 1-metilciclopropeno (1-MCP). Para ello, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

1. Analizar los efectos del tratamiento con 1-MCP sobre la producción de etileno y la maduración postcosecha en las variedades 'Royal Zee', 'Blackamber', 'Friar', 'Linda Rosa', 'Larry Ann' y 'Angeleno'.
2. Determinar el efecto del tratamiento con 1-MCP sobre el desarrollo de daños por frío en las variedades 'Royal Zee', 'Blackamber', 'Friar', 'Linda Rosa', 'Larry Ann' y 'Angeleno'.
3. Establecer cuál es el papel del etileno en el desarrollo de los daños por frío en las variedades 'Larry Ann' y 'Angeleno' y cuáles son los procesos fisiológicos y bioquímicos implicados en el desarrollo de este desorden en la variedad 'Larry Ann'.
4. Evaluar los factores que pueden afectar el potencial de almacenamiento de los frutos y la respuesta de los mismos al tratamiento con 1-MCP, tales como: variedad, madurez de los frutos al momento de la cosecha, temperatura y duración del almacenamiento, dosis aplicada y tiempo entre la cosecha y la aplicación.





# III PLAN DE TRABAJO



La mayor parte del trabajo experimental para el desarrollo de la presente tesis fue realizado en los laboratorios del INTA Alto Valle, Río Negro, Argentina. El contacto con los directores de tesis se llevó adelante mediante visitas anuales al centro UdL-IRTA, Lleida, España. En cada una de las visitas se discutieron los resultados obtenidos en la campaña anterior, se trabajó en la redacción de los artículos científicos y se definió el plan de trabajo para la campaña siguiente.

A continuación se describe brevemente la cronología correspondiente a las actividades llevadas a cabo a lo largo de los 5 años de realización de esta tesis (Figura 1) y se detallan los diversos ensayos experimentales llevados a cabo.

**2003.** Realización de ensayos preliminares orientados a definir las condiciones óptimas para el tratamiento con 1-MCP en ciruelas. Los mismos fueron incluidos en el trabajo final para la obtención del Diploma de Estudios Avanzados (DEA).

**2004.** Estancia en Lleida para la realización de los cursos de doctorado en la Universitat de Lleida, España. Ejecución de ensayos para evaluar el efecto de la dosis de 1-MCP aplicada, sobre la respuesta al 1-MCP en ciruelas 'Blackamber' (Capítulo 1).

**2005.** Ejecución de ensayos para estudiar el desarrollo de daños por frío en ciruelas 'Larry Ann' y 'Angeleno' y la respuesta de las mismas al tratamiento con 1-MCP (Capítulo 3, 1º Parte). Realización de una estancia en el Kearney Agricultural Center, Universidad de California, Estados Unidos. Obtención del DEA en noviembre del año 2005.

**2006.** Ejecución de ensayos para evaluar el efecto que tiene el estado de madurez al momento de la cosecha, la temperatura y duración del almacenamiento, sobre la respuesta al 1-MCP en ciruelas 'Larry Ann' (Capítulo 2). Continuación de los trabajos para el estudio de la relación entre la producción de etileno y el desarrollo de los daños por frío mediante la aplicación exógena de etileno a ciruelas 'Angeleno' (Capítulo 3, 2º Parte) y el estudio de los cambios bioquímicos en ciruelas 'Larry Ann' expuestas a bajas temperaturas (Capítulo 4).

**2007.** Ejecución de ensayos para el estudio de la eficiencia de un tratamiento post-almacenamiento con 1-MCP, con el objetivo de flexibilizar el momento de aplicación y facilitar la adopción de esta tecnología a nivel comercial (Capítulo 5).

**2008.** Ejecución de ensayos para evaluar el efecto del tratamiento con 1-MCP sobre la producción de etileno, la madurez y el desarrollo de daños por frío en otras variedades de ciruelas climatéricas de interés para la región del Alto Valle, en Argentina (Capítulo 6).

**2009.** Redacción de trabajos científicos y elaboración del manuscrito final de la tesis doctoral.

**2010.** Lectura de la tesis.

**Figura 1.** Cronograma de actividades llevado a cabo durante el desarrollo de los estudios de doctorado.

<b>Concepto</b>
1. Formación académica y Científica
1.1. Asistencia a cursos complementarios
1.2. Estancia en Lleida 2004 - Cursos de doctorado
1.3. Estancia en Lleida 2005 - Defensa del DEA
1.4. Presentación del Plan de Trabajo para la tesis Doctoral
<b>2. Ejecución de ensayos</b>
2.1. Ensayos preliminares para el DEA
2.2. Ensayos - Capítulo 1 (Dosis en Blackamber)
2.3. Ensayos - Capítulo 3 - 1º parte (Daños por frío y 1-MCP - Larry Ann y Angeleno)
2.4. Ensayos - Capítulo 3 - 2º parte (Daños por frío y Etileno - Angeleno)
2.5. Ensayos - Capítulo 2 (Madurez, temperatura y duración del almacenamiento en Larry Ann)
2.6. Ensayos - Capítulo 4 (Bioquímica de los daños por frío - Larry Ann)
2.7. Ensayos - Capítulo 5 (Tratamiento post-almacenamiento - Larry Ann)
2.8. Ensayos - Capítulo 6 (Variedades - Royal Zee, Linda Rosa, Friar, Angeleno)
<b>3. Trabajo de intercambio y discusión de los datos obtenidos</b>
3.1. Estancia de trabajo en Kearney Agricultural Center, University of California
3.2. Estancia en Lleida - 2006
3.3. Estancia en Lleida - 2007
3.4. Estancia en Lleida - 2008
<b>4. Presentación de trabajos en congresos</b>
4.1. 7th International Symposium on the Plant Hormone Ethylene. 2006, Pisa, Italia.
4.2. XXXI Congreso Argentino de Horticultura. 2008, Mar del Plata, Argentina
4.3. VI International Postharvest Symposium. 2009, Antalya, Turquía.
<b>5. Redacción de documentación</b>
5.1. Elaboración de trabajos para los cursos de doctorado
5.2. Elaboración del documento para obtener el diploma de Estudios Avanzados (DEA)
5.3. Elaboración de artículo científico 1 (Capítulo 1)
5.4. Elaboración de artículo científico 2 (Capítulo 3)
5.5. Elaboración de artículo científico 3 (Capítulo 4)
5.6. Elaboración de artículo científico 4 (Capítulo 5)
5.7. Elaboración de artículo científico 5 (Capítulo 6)
5.8. Elaboración de la Tesis Doctoral
<b>6. Lectura de la tesis</b>





## IV RESULTADOS





## CAPÍTULO 1

### IMPROVEMENT OF STORABILITY AND SHELF LIFE OF 'BLACKAMBER' PLUMS TREATED WITH 1-METHYLCYCLOPROPENE

Ana Paula Candan<sup>1</sup>  
Jordi Graell<sup>2</sup>  
Carlos Crisosto<sup>3</sup>  
Christian Larrigaudière<sup>2</sup>

<sup>1</sup> INTA Alto Valle, C.C. 782 (8332) General Roca, Río Negro, Argentina

<sup>2</sup> Centro UdL-IRTA, CeRTA, Rovira Roure 191, 25198 Lleida, Spain

<sup>3</sup> University of California, Davis, Kearney Agricultural Center, Parlier, CA 93648, USA

**Publicado en:**

Food Science and Technology International, 2006, 15 (2): 437-4



---

## ABSTRACT

---

Rapid softening is one of the most important factors that limits the market life of plums. To avoid this problem, 'Blackamber' plums were treated with 0, 150, 300 and 600 ppb of 1-MCP and their quality evaluated after 15, 30 and 50 days of storage at 0 °C, immediately and after a 6 days at 25 °C. 1-MCP treatment effectively decreased ethylene production during storage and shelf life in fruits kept 15 and 30 d at 0°C. In contrast, fruits kept for 50 d at 0°C showed a significant increase in ethylene production during shelf life. Changes in ethylene production by 1-MCP were associated with a decrease of firmness loss and maintenance of titratable acidity but not with the development of red flesh colour. Soluble solids content of the fruit was not affected by the 1-MCP treatment. In this assay no significant symptoms of chilling injury or rot were observed. Overall, the results presented in this work throw light on the role of ethylene on quality changes in 'Blackamber' plums. They also showed that 1-MCP could be considered commercially to improve the storage life and resistance to mechanical bruising in 'Blackamber' plums without prejudicial effects on quality.

*Key words: Prunus salicina, 1-MCP, ripening, cold storage, commercial quality*

---

## INTRODUCTION

---

The high rate of softening and susceptibility to chilling injury are the two main factors which limit the postharvest life of plums (Plich, 1999). At present, cold storage is the technology most widely used to slow ripening, and therefore the softening of this fruit. The most suitable temperatures are those near 0 °C but above the freezing point of the fruit (Mitchell and Kader, 1989). However, following extended storage duration in these conditions, the fruit develop chilling injury symptoms that are characterized by browning and gel breakdown (translucency) of the pulp (Taylor et al., 1993a, b; Taylor et al., 1994).

Depending on its ripening behaviour, plums varieties can be divided into climacteric and suppressed climacteric fruits (Abdi et al., 1997). In the climacteric plums, the production of ethylene is increased and triggers the ripening process. In suppressed climacteric plums, the ethylene production rates increases only during the later period of ripening, and at low rates when compared to the climacteric cultivars. In general, changes in ripening attributes in suppressed climacteric plums were not directly correlated to ethylene production, which was sometimes produced at insufficient levels to trigger the ripening process (Abdi et al., 1997, 1998).

‘Blackamber’ plums present a typical climacteric ripening behaviour and its quality parameters sharply change in relation to harvest date. As in other climacteric species, ripening of harvested fruit triggers a softening, increase in Soluble Solids Content (SSC) and decrease in Titratable Acidity (TA). Although all these maturity indexes are strictly related to the ripening of the fruit, the best indicator of ripening is likely the flesh colour (Crisosto et al., 2004). In general, fruit maturity directly determines the consumer acceptance and the market potential of the fruit. According to Crisosto et al. (2004), plums with high SSC levels (> 12%) had high consumer acceptance regardless of acidity values. In contrast, plums that showed lower SSC values (between 10 and 11.9%) were discarded when they also exhibited high acidity.

1-methylcyclopropene (1-MCP) is an innocuous gas used at very low concentration that inhibits ethylene action by blocking the ethylene receptors. It can therefore slow down the ripening process as well as the senescence of the fruit (Sisler and Serek, 1999). In recent years an extensive work has been done in describing the effects of 1-MCP in fruit ripening (Blankenship and Dole, 2003). In plum, 1-MCP effectively reduced ethylene and CO<sub>2</sub> production, and delayed ripening in climacteric and

climacteric-suppressed plums (Abdi et al., 1998; Dong et al., 2001; Dong et al., 2002; Argenta et al., 2003; Martínez-Romero et al., 2003; Menniti et al., 2004). However, inhibitors of ethylene may also have detrimental effects on stone fruit during storage, reducing its ability to ripen normally after storage and/or producing storage disorders (Dong et al., 2002).

In a previous study carried out in 'Blackamber' plums (Candan, 2003), we showed that a treatment with 600 ppb of 1-MCP delayed the ripening as well as the occurrence of symptoms such as flesh browning. However, this treatment also reduced the development of juice and flavour in the fruit. The objective of the present study was to evaluate the effect of lower doses of 1-MCP. Emphasis was given to fruit quality and especially on the effect on fruit firmness in order to improve fruit manipulation, and on the content in sugar and acidity in order to increase consumer acceptance. The final objective was to improve the storage of 'Blackamber' plums without reducing its eating quality and without producing storage disorders.

---

## MATERIALS AND METHODS

---

### Plant material and treatments

'Blackamber' plums were harvested on December 22<sup>nd</sup> 2003 from a commercial orchard in Rio Negro (Argentina), according to values of fruit firmness. The fruit were immediately taken to the laboratory, where a 20 fruit sample was used to determine the harvest maturity. Fruit of similar size and free of defects were chosen and stored at 0 °C for quick cooling. The following day, the fruit were treated with 150, 300 and 600 ppb of 1-MCP (SmartFresh® 0.14%) for 24 hours at 0 °C in a cold storage chamber and according to the manufacturer recommendations. At the time of the treatment, the fruit had a pulp temperature of ~9 °C. Control fruit also remained under similar storage conditions. No wax or fungicides were applied and fruits were packaged on a platform with two tray-liners and no plastic bag. The fruits were stored at 0 °C and 85% RH for 15, 30 and 50 days, and the quality parameters evaluated after removal from the chamber and after a 6 days of shelf life at room temperature (~25 °C).

### Ethylene production

For each sample, three replicates of eight fruits each were used to determine rates of ethylene production. Fruit of similar size were sealed into 3 litres jars for 30 minutes at

room temperature (~25 °C). Gas samples of 1ml were withdrawn from each jar and the concentrations of ethylene determined using a GC14-A Shimadzu gas chromatograph equipped with an activated alumina column and a FID detector. Temperatures were 110, 40 and 250 °C for injector, oven and detector, respectively. Helium was used as a gas carrier at 1.25 kg.cm<sup>-1</sup>.

### Firmness, soluble solids content (SSC), Titratable acidity (TA)

Firmness was measured on both sides of each fruit, after peeling, and using a manual penetrometer with an 8 mm plunger. Two slices of flesh were taken from each fruit and juiced to determine SSC (°brix) with an auto temperature compensated refractometer (Atago), and TA (%) by titrating 10 ml juice with NaOH 0.1 N to pH 8.2. For each sample, three replicates of 20 fruits each were assessed.

### Colour assessment

The intensity of red colour of the epidermis was determined by taking two measurements from different sides of five fruits per sample using a Minolta CR300 tristimulus colorimeter and expressing the values as chroma ( $(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$ ). In addition, the percentage of fruit with red pulp and their colour intensity was recorded, and expressed as an index of flesh colour (FC) where: Grade 1 (<25% red pulp), Grade 2 (25 to 50%), Grade 3 (50 to 75%), Grade 4 (>75%).

Index FC = (Grade of intensity x n° fruit at this grade)/total fruit.

### Chilling injury and rot

The percentage of fruit affected as well as the intensity of the internal translucency and browning symptoms were recorded, and expressed as an index of chilling injury (CI). The scale of CI was defined visually according to the percentage of affected pulp and where: Grade 1 (<25%), Grade 2 (25 to 50%), Grade 3 (50 to 75%), Grade 4 (>75%).

Index CI = (Grade of intensity x n° fruit at this grade)/total fruit.

The percentage of rotten fruit was also recorded.

## Percentage of ripe fruits

Sensory analyses were carried out after the shelf life by a non-trained panel to estimate whether the fruit were 'ready to eat' in relation to defined ranges of flesh firmness. Panelists were volunteers experienced in fruit tasting and selected among the staff working in the INTA institute.

## Statistical analysis

All data obtained from the trial were analysed using ANOVA, carried out with GLM procedure from SAS v.8.2. The 4 treatments were compared for each storage and shelf life period. Least significant differences between treatments (LSD,  $\alpha=0.05$ ) were calculated at each evaluation date.

---

## RESULTS

---

**Table 1.** Maturity parameters at harvest of 'Blackamber' fruits.

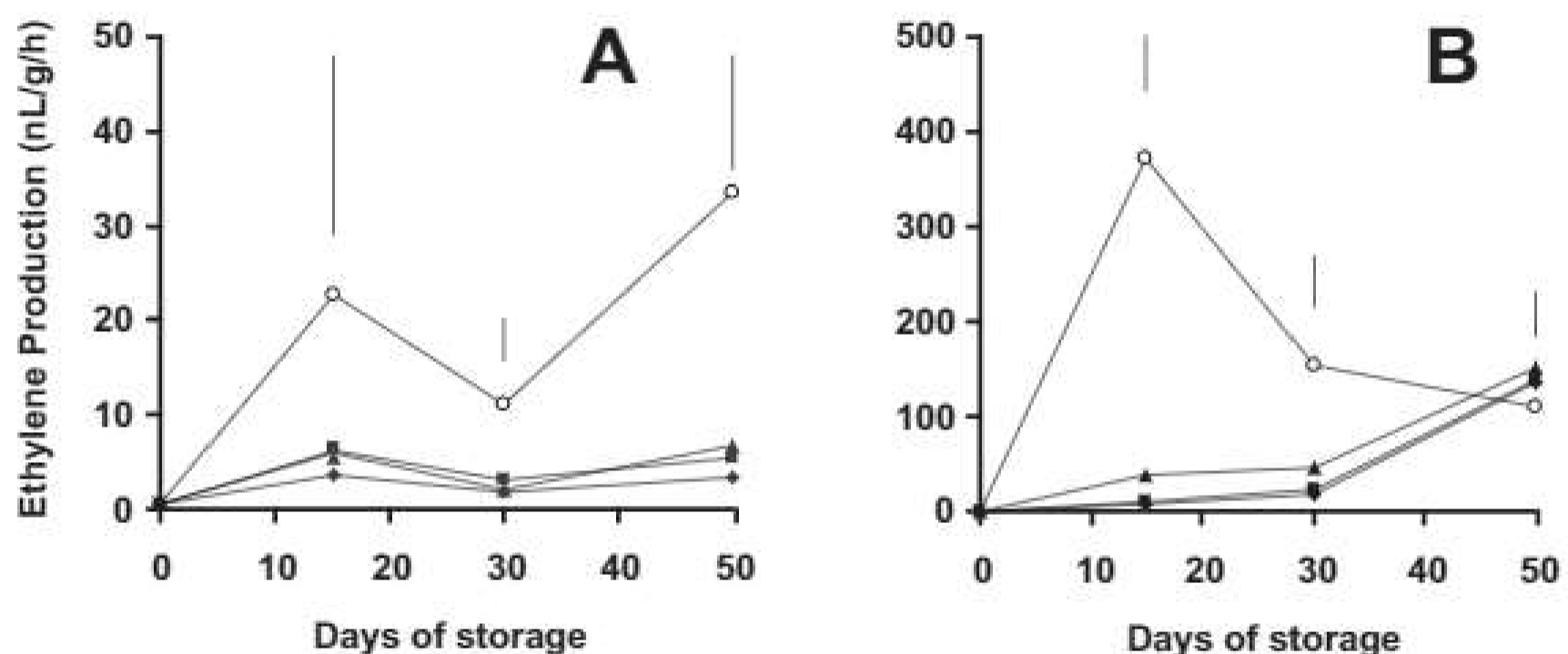
<b>Parameters</b>	<b>Means* <math>\pm</math> SD</b>
Weight (g)	88.8 $\pm$ 11.5
Ethylene production (nL.g <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup> )	0.50 $\pm$ 0.28
Firmness (N)	35.5 $\pm$ 5.8
TA (%)	2.66 $\pm$ 0.12
SSC ( $^{\circ}$ brix)	16.0 $\pm$ 0.4
Epidermis colour (Chroma)	10.2 $\pm$ 0.7
Flesh colour (FC index)	0.36 $\pm$ 0.17

---

\*Values represent means of 30 fruits for weight, firmness, epidermis and flesh colour. TA and SSC values were determined on the juice of 30 different fruit (five determinations) and ethylene production from three replicates of 8 fruit each.

## Ethylene production

The rate of ethylene production at harvest was 0.50 nL g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (Table 1), corresponding to mature but unripe plum (Kader and Mitchell, 1989). Immediately after removal from cold storage, the rate of ethylene production remained low for all treatments (Figure 1A). During storage, values between 10 and 30 nL g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> were observed in control fruit but these values remained lower than 7 nL g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> for the 1-MCP treated fruits. 1-MCP reduced the rate of ethylene production after 30 and 50 days of cold storage. After 6 days of shelf life at ~25°C (Figure 1B), ethylene production increased in all the 1-MCP treated fruits. Control fruits had significantly higher rates of ethylene production after 15 and 30 days at 0 °C. Later, ethylene production decreased significantly whereas it increased in the 1-MCP treated fruits.



**Figure 1.** Changes in ethylene production of 'Blackamber' plums treated with 1-methylcyclopropene, after 15, 30 and 50 days at 0°C. Concentrations: (○) 0, (▲) 150, (◆) 300 and (■) 600 ppb. (A) Changes immediately after removal from cold storage. (B) Changes after the same periods of cold storage + 6 days at 25°C. Data represent means of three replicates of eight fruits each. Vertical bars represent the LSD (=0.05) between treatment means for each evaluation date.

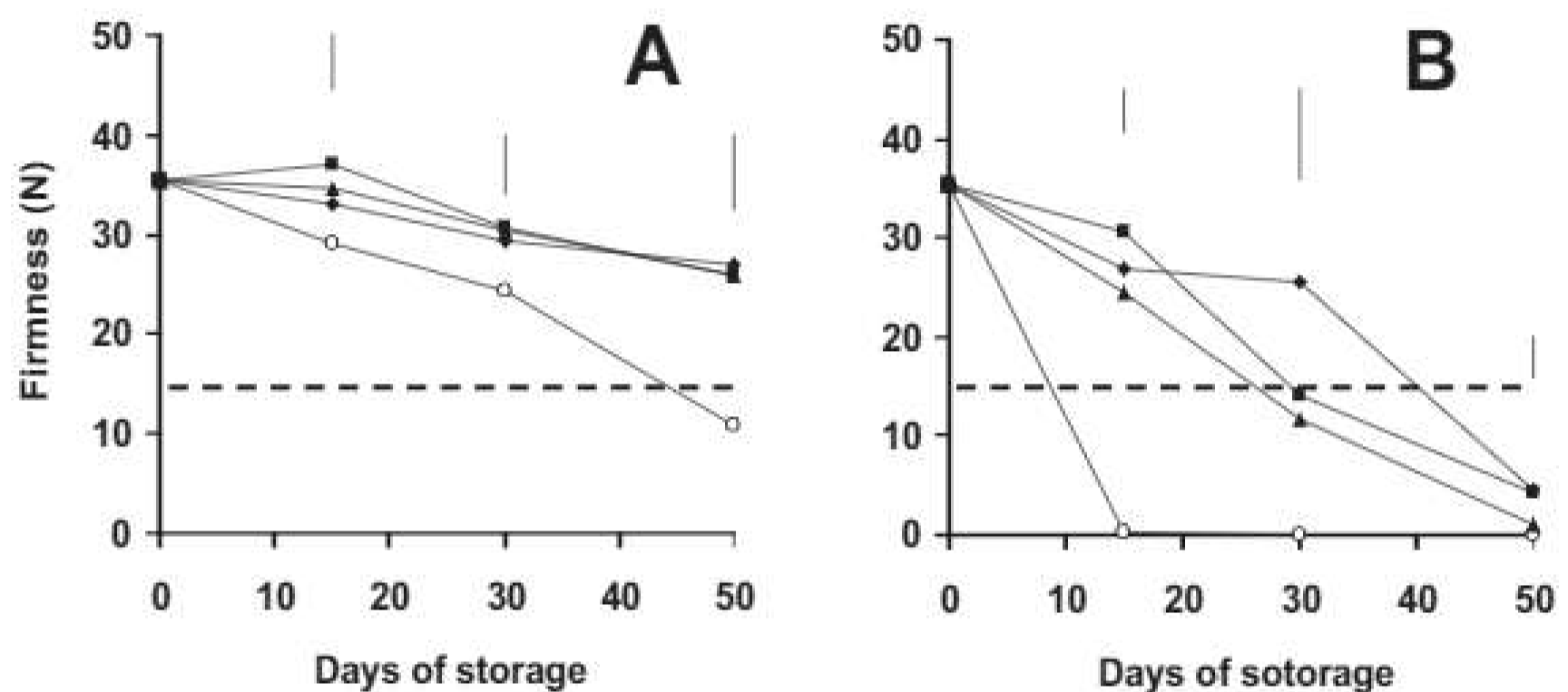
## Flesh firmness

During cold storage (Figure 2A), all the 1-MCP doses were effective for maintaining firmness at values higher to the bruising threshold (14 N). After 15 and 30 days of storage, the differences in firmness between control and treated fruits were 4.5 or 9 N respectively. Maximum differences were observed after 50 days of storage, when control fruits (~13 N) presented half of the firmness value of the treated fruits (~27 N).



At this time, the losses of firmness for the control fruits during storage were 63% and only 25% for the treated fruits.

All the fruits ripened much more rapidly during the shelf life (Figure 2B). After 15 days of storage + 6 days shelf life, the control fruits softened completely (~0 N). In contrast, fruits treated with 1-MCP had firmness values of 25 to 31 N. After 30 days, all the 1-MCP treated fruits remained significantly firmer and at a value higher or similar to the threshold value for bruising. Later, fruit softened to values inappropriate with commercial requirements.

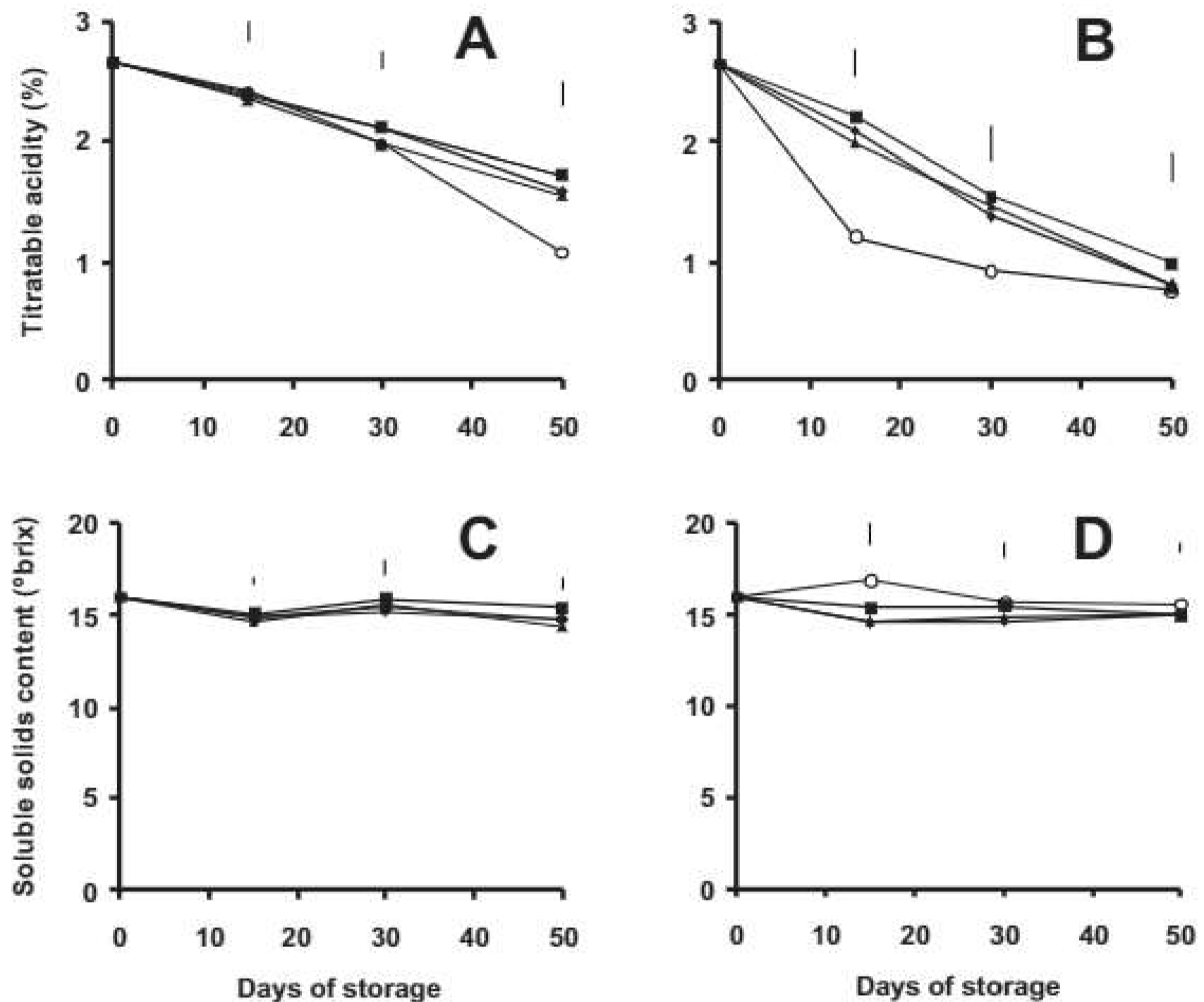


**Figure 2.** Changes in fruit firmness of 'Blackamber' plums treated with 1-methylcyclopropene, after 15, 30 and 50 days at 0°C. Concentrations: (○) 0, (▲) 150, (◆) 300 and (■) 600 ppb. (A) Changes immediately after removal from cold storage. (B) Changes after the same periods of cold storage + 6 days at 25°C. Data represent means of three replicates of twenty fruits each. Vertical bars represent the LSD ( $\alpha=0.05$ ) between treatment means for each evaluation date. Dotted line represents the bruising threshold.

### Titratable acidity and soluble solids content

In general, fruits lost acidity during the cold storage and even more following ripening at room temperature. Regardless of the doses, 1-MCP treatment significantly reduced the acidity loss especially after 50 days of storage at 0 °C (Figure 3A), and after 15 and 30 days of storage when the fruits were kept 6 days at 25°C for ripening (Figure 3B). No significant differences between treatments were found after 50 days of storage plus 6 days shelf life. SSC was 16.0 °brix at harvest (Table 1). No significant changes in

SSC were found between control and 1-MCP treated fruits during cold storage and post-storage ripening ( Figure 3C and D).

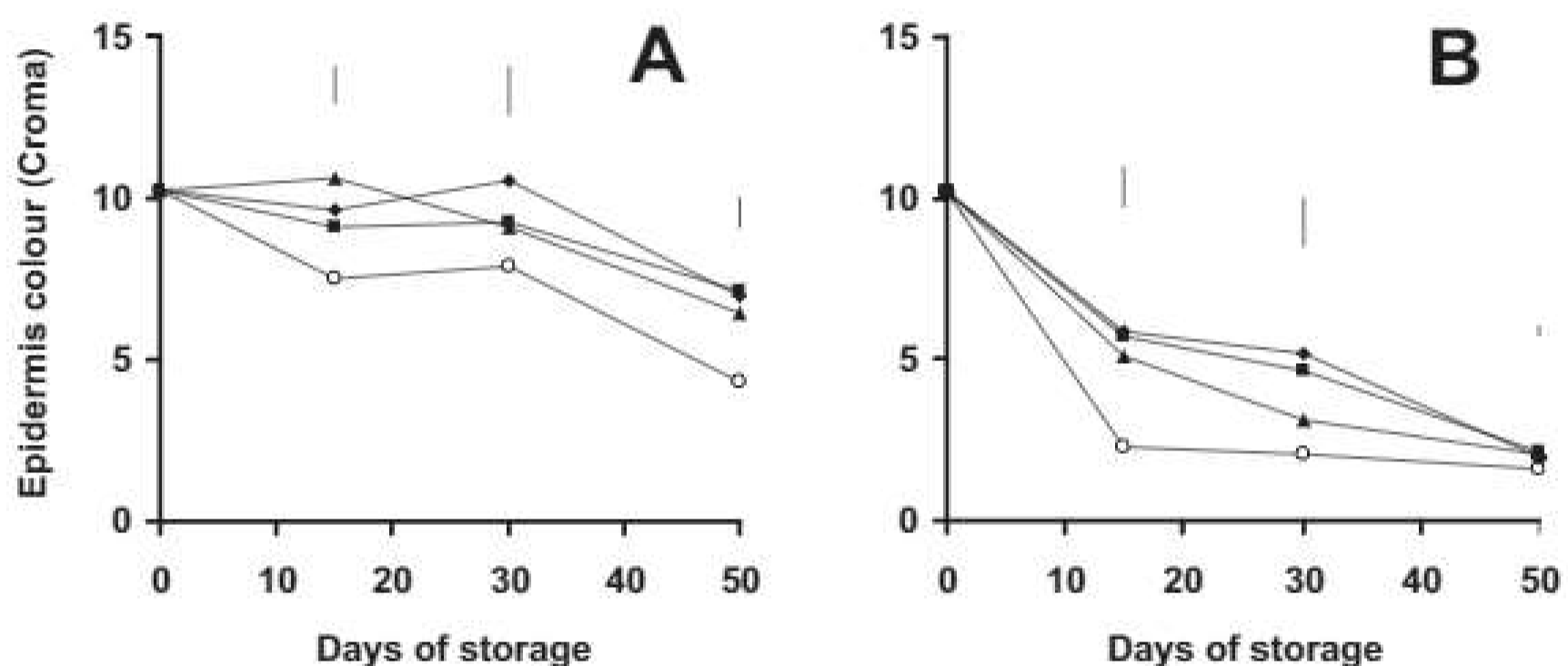


**Figure 3.** Changes in titratable acidity and soluble solids content of 'Blackamber' plums treated with 1-methylcyclopropene, after 15, 30 and 50 days at 0°C. Concentrations: (○) 0, (▲) 150, (◆) 300 and (■) 600 ppb. (A) Changes immediately after removal from cold storage. (B) Changes after the same periods of cold storage + 6 days at 25°C. Data represent means of three replicates of twenty fruits each. Vertical bars represent the LSD (=0.05) between treatment means for each evaluation date.

## Epidermis and flesh colour

The fruit were harvested with a Chroma value of 10.2. The 1-MCP treatment delayed the changes in epidermis colour during storage and the Chroma values remained significantly higher than in control fruit during storage (Figure 4A). When the fruit

were kept at 25°C (Figure 4B), the Chroma value decreased significantly both in control and 1-MCP treated fruits (reddening of the skin). Except after 50 days storage, 1-MCP treated fruit remained significantly greener (higher value of Chroma). At harvest and as generally observed for unripe plums, most of the fruit did not have red pigment in the flesh and FC index was 0.36 (Table 1). During cold storage, the control fruits exhibited a slight increase of FC index during the first 30 days, but coloured much more rapidly later (Table 2). This increase in pulp colouration was reduced by the 1-MCP treatment during storage irrespective of the dose. At room temperature, the red pulp colour significantly increased similarly to control fruit but to a significantly lower extent.



**Figure 4.** Changes in epidermis colour of 'Blackamber' plums treated with 1-methylcyclopropene, after 15, 30 and 50 days at 0°C. Concentrations: (○) 0, (▲) 150, (◆) 300 and (■) 600 ppb. (A) Changes immediately after removal from cold storage. (B) Changes after the same periods of cold storage + 6 days at 25°C. Data represent means of three replicates of twenty fruits each. Vertical bars represent the LSD (=0.05) between treatment means for each evaluation date.

### Chilling injury and rot

In all cases, very slight chilling injury incidence was found. The chilling injury (CI) index was less than 0.5 and no significant differences were found between treatments (Table 2). No rots were observed either in control or in 1-MCP treated fruits.

## Percentage of 'ready to eat' fruits

According to sensory analysis, the firmness values that classify the fruit as 'ready to eat' were between 5 to 15 N. After 6 days of ripening, and irrespective to the storage duration, nearly 100% of the control fruits were below 5 N. In contrast, 1-MCP treated fruits were considered as 'ready to eat' even after 30 days storage + 6 days shelf life. After 50 days storage, 1-MCP treated fruits were acceptable immediately after removal but rapidly lost firmness and were rejected.

**Table 2.** Effect of 1-MCP doses on red FC or CI index in 'Blackamber' plums stored at 0 °C for 15, 30 and 50 and following 0 or 6 days at 25 °C.

	1-MCP (ppb)	Days at 0 °C					
		15 Days of shelf life		30 Days of shelf life		50 Days of shelf life	
		0	6	0	6	0	6
FC Index*	Control	0.55 a	2.68 a	0.75 a	2.97 a	2.75 a	3.12 a
	150	0.37 a	2.02 b	0.63 a	2.38 b	1.30 b	2.87 ab
	300	0.40 a	1.43 b	0.53 a	1.80 c	0.82 c	2.63 b
	600	0.52 a	1.57 b	0.52 a	2.30 b	1.33 b	2.57 b
CI Index*	Control	0.00 a	0.00 a	0.07 a	0.00 c	0.33 a	0.18 a
	150	0.22 a	0.18 a	0.03 a	0.23 b	0.17 a	0.33 a
	300	0.00 a	0.07 a	0.00 a	0.03 cb	0.17 a	0.27 a
	600	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.45 a	0.08 a	0.22 a

\*Data represent means of three replicates of twenty fruits each. For each period of storage, treatments with the same letter were not significantly different (LSD, =0.05). Values in the same column for the same index followed by the same letter are not significantly different at a 5% level.

## DISCUSSION

1-MCP treatment significantly reduced ethylene production and delayed the climacteric ethylene peak in 'Blackamber' plums, as was also observed in other climacteric plum cultivars (Dong et al., 2002; Argenta et al., 2003). This inhibitory

effect was found both during storage but also at room temperature following storage for up to 30 days. After 50 days at 0 °C plus shelf life, 1-MCP treatment was unable to prevent ethylene production and ripening.

The largest difference in firmness between control and treated fruits were observed after 50 days of cold storage. Maximum differences coincided with maximum differences in ethylene production and showed that ethylene was produced at cold temperature at least at low internal levels sufficient to trigger ripening. These results also showed that the firmness loss and ethylene production are related in 'Blackamber' plums. Such a relationship has been observed in other cultivars such as 'Red Rosa' and 'Royal Zee' (Dong et al., 2001, 2002). It has been suggested that softening is the ripening process most sensitive to ethylene (Lelièvre et al., 1997). Our results were consistent with this theory and showed the value of the 1-MCP treatment in extending the commercial life of plums beyond 30 days at 0°C. The retention of firmness in 1-MCP treated fruits during storage and at room temperature may also improve the resistance of the fruit to mechanical bruising. According to Crisosto et al. (2004), 'Blackamber' should have firmness values higher than 14 N to avoid mechanical bruising. This may be achieved by treating the fruit with 1-MCP but only when the fruit were cold stored for less than 1 month.

During storage, 1-MCP treatment maintained fruit at higher firmness values. After transfer to room temperature, this effect was reversible and the 1-MCP treated fruits softened and lost acidity. This is assumed to be due to the synthesis of new receptors that make possible the action of ethylene (Sisler and Serek 1997). Abdi et al. (1998) observed that suppressed climacteric plums are unable to achieve normal ripening without exogenous application of ethylene or analogues. In the present trial, the 1-MCP treatment only delayed ripening. This result is of practical interest because it showed that the 1-MCP treatment might be applied to improve the storage behaviour of 'Blackamber' plums without detrimental effects on fruit quality.

Although firmness was the parameter most affected, loss of titratable acidity and change in pulp colour were also lowered by 1-MCP treatments. A similar effect on acidity was also observed in the 'Royal Zee' and 'Laetitia' plums (Dong et al., 2002; Argenta et al., 2003). These results show that the changes in acidity and flesh colour in 'Blackamber' plums were at least in part ethylene dependent. In contrast SSC changes appeared to be ethylene independent. This specific behaviour for SSC highlighted the idea that SSC levels at harvest had to be considered as the most important parameter to take into account before treating the plum with 1-MCP. Although 1-MCP treatment

also delayed the loss of acidity, the excess of acidity appear to be a secondary factor for consumer acceptance. Plums are more acceptable when SSC levels are above 12% (Crisosto et al., 2004). Thus, 1-MCP treatment appears to be a practical way to improve the storability of 'Blackamber' plums without affecting their organoleptic quality.

Changes in pulp colour, which may be considered as a marker of over-ripening in this cultivar, were consistently delayed by 1-MCP treatment especially during storage. This observation contrast with those of Dong et al. (2002), who clearly found an increase of the development of internal red colour in 1-MCP treated 'Royal Zee' plums after transfer to room temperature.

In our work, 'Blackamber' plums were classified by taste test as 'ready to eat' when firmness ranged 5 to 15 N. According to Crisosto (1994), plums with 9 to 13.5 N flesh firmness are considered 'ready to eat'. Untreated 'Blackamber' plums retained their eating quality until 30 days of storage. After transfer to room temperature, these fruit softened quickly and became overripe. In contrast, 1-MCP treated fruits stored up to 30 days, remained firmer and were 'ready to eat' during the entire shelf life period. These results are of commercial interest because they showed that 1-MCP may be used to extend the commercial life of 'Blackamber' plums and to increase the number of commercially acceptable fruits during the same period. This treatment, by its action on firmness, may also improve the resistance of the fruit to mechanical damage. As no significant differences were found between doses, a dose of 150 ppb appeared to be sufficient to obtain these beneficial effects.

---

## ACKNOWLEDGEMENTS

---

This research was supported by INTA Alto Valle. Fruits and packaging material were provided by Moño Azul S.A. The statistical analysis of this trail was done by Pablo Reeb (INTA). Special thanks also to Gabriela Calvo (INTA) for revising the manuscript and to Sonia Romero for her technical assistance.

---

## REFERENCES

---

- Abdi N., Holford P., Mc Glasson W.B. and Mizrahi Y. (1997).** *Ripening behaviour and responses to propylene in four cultivars of Japanese type plums. Postharvest Biology and Technology* 12: 21-34.
- Abdi N., Mc Glasson W.B., Holford P., Williams M. and Mizrahi Y. (1998).** *Responses of climacteric and suppressed climacteric plums to treatment with propylene and 1-methylcyclopropene. Postharvest Biology and Technology* 14: 29-39.
- Argenta L.C., Krammes J.G., Megguer C.A., Amarante C.V.T. and Mattheis J. (2003).** *Ripening of 'Laetitia' plums following harvest and cold storage as affected by inhibition of ethylene action. Pesquisa Agropecuaria Brasileira. v. 38, 10: 1139-1148.*
- Blankenship S.M. and Dole J.M. (2003).** *1-Methylcyclopropene: a review. Postharvest Biology and Technology* 28: 1-25.
- Candan A.P. (2003).** *Efecto del 1-MCP y del preacondicionado en la madurez y calidad de ciruelas (Prunus salicina) cv. 'Blackamber' almacenadas a 0°C. Informe técnico. INTA Alto Valle. Río Negro. Argentina.*
- Crisosto C.H. (1994).** *Optimum procedures for ripening stone fruit. Perishables Handling Newsletter* 80: 22-24.
- Crisosto C.H., D. Garner, G.M. Crisosto and Bowerman E. 2004.** *Increasing 'Blackamber' plum consumer acceptance. Postharvest Biology Technology* 34: 237-244.
- Dong L., Zhou H.W., Sonogo L., Lers A. and Lurie S. (2001).** *Ripening of Red Rosa plums: effect of ethylene and 1-methylcyclopropene. Australian Journal of Plant Physiology* 28: 1039-1045.
- Dong L., Lurie S. and Zhou H. W. (2002).** *Effect of 1-methylcyclopropene on ripening of 'Canino' apricots and 'Royal Zee' plums. Postharvest Biology and Technology* 24: 135-145.
- Kader A. and Mitchell G. (1989).** *Postharvest physiology. In: La Rue, J. H., Johnson, R. S. (Eds.). Peaches, plums and nectarines: Growing and handling for fresh market. University of California, Publication No. 3331: 158-164.*
- Lelièvre J.M., Latché A., Jones B., Bouzayen M. and Pech J.C. (1997).** *Ethylene and fruit ripening. Physiologia Plantarum* 101: 727-739.

- Martínez-Romero D., Dupille E., Guillén F., Valverde J.M., Serrano M. and Valero D. J. (2003).** *1- methylcyclopropene increases storability and shelf life in climacteric and non climacteric plums. Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 4680-4686.
- Menniti A.M., Gregori R. and Donati I. (2004).** *1-Methylcyclopropene retards postharvest softening of plums. Postharvest Biology and Technology* 31: 269-275.
- Mitchell G. and Kader A. (1989).** *Factors affecting deterioration rate. In: La Rue, J. H., Johnson, R. S. (Eds.). Peaches, plums and nectarines: Growing and handling for fresh market. University of California, Publication No. 3331: 165-178.*
- Plich H. (1999).** *The effect of storage conditions and date of picking on storability and quality of some plum (Prunus domestica L.) cultivars. Acta Horticulturae* 485: 301-307.
- Sisler E.C. and Sereck M. (1999).** *Compounds controlling the ethylene receptor. Botanica Bulletin Academica Sinica* 40: 1-7.
- Taylor M.A., Jacobs G., Rabe E. and Dodd M.C. (1993a).** *Physiological factors associated with over-ripeness, internal breakdown and gel breakdown in plums stored at low temperature. Journal of Horticultural Science* 68 (5): 825-830.
- Taylor M.A., Rabe E., Jacobs G. and Dodd M.C. (1993b).** *Physiological and anatomical changes associated with ripening in the inner and outer mesocarp of cold stored 'Songold' plums and concomitant development of internal disorders. Journal of Horticultural Science* 68 (6): 911-918.
- Taylor M.A., Rabe E., Dodd M.C. and Jacobs G. (1994).** *Effect of storage regimes on pectolitic enzymes, pectic substances, internal conductivity and gel breakdown in cold stored 'Songold' plums. Journal of Horticultural Science* 69 (3): 527-534.



## CAPÍTULO 2

**RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON  
1-METILCICLOPROPENO EN CIRUELA  
'LARRY ANN' COSECHADAS EN TRES  
ESTADOS DE MADUREZ DIFERENTES  
Y ALMACENADAS A 0°C Y 5°C.**

Ana Paula Candan<sup>1</sup>  
Jordi Graell<sup>2</sup>  
Christian Larrigaudière<sup>2</sup>

<sup>1</sup> INTA Alto Valle, C.C. 782 (8332) General Roca, Río Negro, Argentina.

<sup>2</sup> Centro UdL-IRTA, XaRTA, Rovira Roure 191, 25198 Lleida, España.



---

## RESUMEN

---

La realización de la cosecha en el momento oportuno y el mantenimiento de la temperatura óptima de almacenamiento son factores clave para mantener la calidad postcosecha de productos tan perecederos como las ciruelas. Sin embargo, la logística de cosecha es muy compleja por lo que un gran porcentaje de frutos suele ser recolectado en un estado de madurez avanzado. Sumado a ello, los frutos son frecuentemente expuestos a temperaturas superiores a 0°C durante las etapas de transporte y comercialización. El objetivo de este ensayo fue evaluar la eficiencia del 1-MCP para reducir la pérdida de calidad debida a estos problemas logísticos. Para ello, las ciruelas 'Larry Ann' se cosecharon con 3 estados de madurez diferentes, se trataron con 0  $\mu\text{L L}^{-1}$  (control) o 0,40  $\mu\text{L L}^{-1}$  de 1-MCP y se conservaron a 0°C o 5°C. Los resultados demostraron que si bien la respuesta de ciruelas 'Larry Ann' al tratamiento con 1-MCP se redujo cuando los frutos se almacenaron a 5°C o cuando se cosecharon en estados de madurez más avanzados, este tratamiento permitiría dar solución a dos problemas frecuentes en la práctica comercial del sector como: a) mantener la calidad de ciruelas de cosechas tardías (M3) hasta 50 días de almacenamiento a 0°C y b) mantener la calidad de ciruelas almacenadas a 5°C, en frutos de cosechas tempranas (M1) y tras cortos períodos de almacenamiento (30 días). Este último resultado sugiere que pueden desarrollarse protocolos de almacenamiento a más altas temperaturas, lo cual ayudaría a reducir el correspondiente consumo de energía. De acuerdo con los resultados obtenidos en este ensayo, la respuesta de los frutos al tratamiento con 1-MCP no dependió de la producción de etileno al momento del tratamiento, sino de la capacidad de los frutos de recuperar la sensibilidad a etileno, la cual sería mayor en frutos de cosechas tardías y cuando los frutos se almacenaron a 5°C en lugar de a 0°C.

*Palabras clave: etileno, madurez a cosecha, temperatura de almacenamiento, potencial de almacenamiento*



---

## ABSTRACT

---

The optimal maturity at harvest and the temperature maintenance during storage are essential to maintain postharvest fruit quality, mainly in high perishable fruits such as plums. However, harvest management is very complex, and consequently, a large percentage of fruits are usually harvested at an advanced stage of maturity. Moreover, fruits are often exposed to temperatures higher than 0°C during shipping and marketing. The aim of this work was to evaluate the efficacy of a 1-MCP treatment in reducing the quality losses due to these logistic problems. For this purpose, 'Larry Ann' plums were harvested at 3 maturity stages, treated with 0  $\mu\text{L L}^{-1}$  (control) or 0,40  $\mu\text{L L}^{-1}$  of 1-MCP and stored at 0°C or 5°C. Results demonstrates that instead 'Larry Ann' response to 1-MCP treatment decreases when fruits were harvested at an advanced stage of maturity or when fruits were stored at 5°C storage, this treatment would solve two problems which occur in commercial practice like a) maintaining the postharvest quality of late harvested plums (M3) for up 50 days of storage at 0°C and b) maintaining the postharvest quality of plums stored at 5°C, when fruits were harvested early and during short storage periods (30 days). This last result suggests that protocols for storage at a higher temperature can be developed in order to reduce energy consumption. According to the obtained results, 1-MCP efficacy did not depend on the ethylene production of the fruits at the time of treatment, but on fruits ability to recover ethylene sensibility, which was higher in late harvested fruits than in earlier harvested fruits and when fruits were stored at 5°C instead 0°C.

*Keywords: ethylene, harvest maturity, storage temperature, storage potential*

---

## INTRODUCCIÓN

---

La mayor parte de las ciruelas producidas en la región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén (Argentina) están destinadas al almacenamiento prolongado ya sea para extender la ventana de venta en el mercado interno o bien para soportar el período de transporte marítimo en bodegas refrigeradas hasta mercados distantes de contraestación. Sin embargo, las ciruelas tienen una vida de postcosecha limitada, debido al excesivo ablandamiento de la pulpa y/o al desarrollo de daños por frío (Kader y Mitchell, 1989; Crisosto et al., 1999).

Al igual que otros frutos climatéricos, las ciruelas tienen la capacidad de producir etileno y madurar después de la cosecha, lo que permite su recolección de forma anticipada. Así, la madurez en el momento de cosecha es uno de los factores determinantes de la calidad final y del potencial de almacenamiento del producto (Kader y Mitchell, 1989). Se ha observado que los frutos cosechados tempranamente presentan menor tamaño, poca coloración, son más sensibles a la deshidratación y, aunque pierden firmeza y acidez durante el almacenamiento, no siempre alcanzan la calidad organoléptica deseada por los consumidores (Abdi et al., 1997a; Crisosto et al., 2004; Hoehn et al., 2005). Al contrario, los frutos de cosechas tardías alcanzan muy buenas características organolépticas (Neri, 2003) pero se ablandan rápidamente y son más sensibles al ataque de patógenos, lo cual reduce su potencial de almacenamiento (Kader y Mitchell, 1989; Abdi et al., 1997a). La madurez al momento de cosecha también afecta la susceptibilidad de los frutos a los daños por frío, aunque los resultados publicados hasta el momento son inconsistentes. Mientras algunos investigadores encontraron que la sensibilidad es mayor en frutos de cosechas tempranas que en frutos de cosechas tardías (Hartmann et al., 1988; Plich, 1999; Crisosto et al., 2004), otros afirman que la misma aumenta a medida que se retrasa la cosecha (Taylor et al., 1995; Abdi et al., 1997a).

Debido a que tanto las cosechas tempranas como tardías afectan negativamente la calidad final de los frutos, es fundamental realizar la recolección en el momento oportuno. Sin embargo, debido a la ocurrencia de factores climáticos, comerciales y de logística, un gran porcentaje de frutos suele ser cosechado con un estado de madurez más avanzado al recomendado para el almacenamiento prolongado. Sumado a ello, la madurez óptima de los frutos resulta aún muy difícil de determinar (Taylor et al., 1995; Abdi et al., 1997a).

El enfriamiento rápido y el mantenimiento de la temperatura óptima (0°C) son factores

claves para reducir la maduración y posterior senescencia en los frutos de carozo (Kader y Mitchell, 1989). Sin embargo, es difícil mantener temperaturas tan bajas a lo largo de todo el proceso poscosecha, y usualmente los frutos se encuentran expuestos a temperaturas de tránsito que varían entre 3°C y 5°C, las cuales provocan un incremento en la tasa de ablandamiento y aceleran el desarrollo de síntomas de daños por frío y podredumbres (Crisosto et al., 1999; Amorim et al., 2008).

El 1-metilciclopropeno (1-MCP) es un compuesto que previene la acción del etileno y ha mostrado ser efectivo en reducir la tasa de deterioro poscosecha en frutos de diversas variedades de ciruela almacenados a 0°C (Skog et al., 2001; Dong et al., 2002; Candan, 2003; Martínez-Romero et al., 2003; Salvador et al., 2003a, b; Menniti et al., 2004). Sin embargo, su efecto en frutos almacenados a temperaturas mayores a 0 °C no ha sido estudiado. Asimismo, el efecto de la madurez de los frutos sobre la efectividad del tratamiento con 1-MCP ha sido estudiado en ciruelas europeas (*Prunus domestica* L.) (Valero et al., 2003), pero no hay trabajos de este tipo realizados en ciruelas japonesas (*Prunus salicina* L.). El objetivo del presente ensayo fue evaluar la eficiencia del 1-MCP en reducir la pérdida de calidad de ciruelas 'Larry Ann' de cosechas tardías y/o almacenadas a 5°C.

---

## MATERIALES Y MÉTODOS

---

### Material vegetal y tratamientos

Este ensayo se realizó con ciruelas japonesas (*Prunus salicina*, Lindl) de la variedad 'Larry Ann' provenientes de un establecimiento productivo comercial situado en la localidad de General Roca, Río Negro, Argentina. Se realizaron 3 fechas de cosecha con un intervalo de 15 días entre cada una de ellas, con el objetivo de obtener frutos con 3 estados de madurez diferentes: M1 (31 de enero), M2 (16 de febrero) y M3 (3 de marzo). Después de cada cosecha los frutos fueron transportados a los laboratorios del INTA Alto Valle, donde se determinó la madurez inicial sobre 3 repeticiones de 20 frutos cada una. En cada fecha de cosecha, los frutos se dividieron en dos lotes homogéneos que se trataron con 0 (Control) o con 0,40  $\mu\text{L L}^{-1}$  de 1-MCP durante 24 horas a lo largo del enfriamiento de los frutos. Posteriormente, los frutos se almacenaron a 0°C y 5°C durante 30, 40 y 50 días. El efecto del tratamiento con 1-MCP sobre el estado de madurez y el desarrollo de los daños por frío en los frutos se evaluó inmediatamente después de cada período de almacenamiento, como así también a los 3 y 7 días de vida en estante a 20°C, sobre 3 repeticiones de 20 frutos cada una.

## Firmeza, sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT) y color de la epidermis

La firmeza de la pulpa (N) se determinó en ambas mejillas del fruto previa extracción de la piel, con un presiómetro electrónico (FTA-GS14, Güss, Sudáfrica), provisto con un émbolo de 8 mm de diámetro. El contenido de SST (%) se determinó sobre el jugo de los frutos de cada repetición con un refractómetro digital autocompensado (PAL-1, Atago, Japón). La AT (%) se determinó mediante la titulación de 10 mL de jugo con NaOH 0,1N hasta pH 8,2. El color de la epidermis se determinó en cada fruto sobre 2 zonas bien cubiertas con color, previa extracción de la pruina natural con un paño, con un colorímetro triestímulo (CR-300, Minolta, Japón). Los datos se expresaron en coordenadas L\*, a\* y b\*, a partir de las cuáles se calculó el tono (hue) y la saturación (croma).

## Color de la pulpa y síntomas de daños por frío

El desarrollo de color rojo en la pulpa y de síntomas de daños por frío se evaluó sobre el corte transversal de cada fruto, con una escala visual de 4 grados de acuerdo al porcentaje de la pulpa con desarrollo de color rojo o con síntomas de daños: Sano (0%), G1 (hasta el 25%), G2 (25 - 50%), G3 (50-75%) y G4 (75- 100%). Los resultados se expresaron como porcentaje de fruta afectada o como intensidad del color o del síntoma, la cual se calculó como la sumatoria del número de frutos en cada grado multiplicado por el grado y dividido por el total de frutos afectados.

## Determinación de la producción de etileno

La producción de etileno se determinó diariamente sobre 3 repeticiones de 6 frutos cada una, hasta alcanzarse el máximo climatérico. Los frutos se pesaron y se encerraron herméticamente en frascos de 3 litros. Después de 30 minutos a 20°C se extrajo 1 mL de muestra del espacio de cabeza, la cual se analizó con un cromatógrafo de gases (GC-14A, Shimadzu, Japón) equipado con columna de alúmina (40°C) y detector FID (210°C). Se utilizó helio como gas transportador. Los resultados se expresaron como tasa de producción de etileno ( $\text{nL g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ).

## Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó INFOSTAT. Se realizó un ANOVA



independiente para cada fecha de salida de frío y para cada estado de madurez. Se consideraron 4 tratamientos (Control a 0°C, 1-MCP a 0°C, Control a 5°C y 1-MCP a 5°C). La separación de medias se realizó con el test de Tuckey ( $\alpha=0,05$ ).

---

## RESULTADOS

---

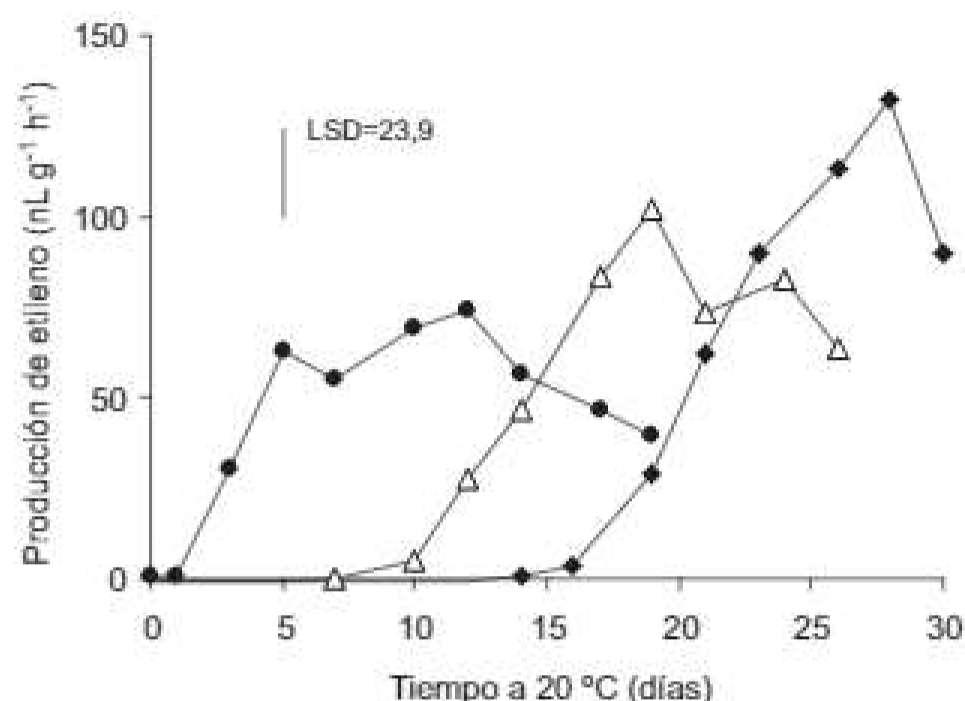
### Características de los frutos en el momento de cosecha

La producción de etileno en el día de la cosecha fue indetectable para los frutos de todas las fechas evaluadas, pero se incrementó posteriormente durante el período de permanencia a 20°C (Figura 1). A medida que se retrasó la cosecha se observó un significativo adelanto del máximo climatérico, el cual ocurrió después de 28, 19 y 12 días a 20°C para los frutos M1, M2 y M3, respectivamente. Además, la magnitud del climaterio se redujo significativamente a medida que se retrasó la cosecha, siendo mayor en los frutos cosechados en M1 (132 nL g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) que en M2 (102 nL g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) y en éstos que en M3 (74 nL g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>).

También se observó que la producción de etileno se incrementó más rápidamente en los frutos cosechados que en los frutos sin cosechar. De esta forma, la producción de etileno de los frutos M1 fue de 3,5 nL g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> y 90 nL g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> después de 16 y 31 días de haber sido cosechados respectivamente, mientras que cuando permanecieron el mismo número de días unidos al árbol (lo cual se corresponde con el día de cosecha, de los estados M2 y M3), la producción de etileno se mantuvo indetectable.

El peso promedio de los frutos para las tres fechas de cosecha fue de 97,2 g sin observarse diferencias significativas entre las mismas, lo cual sugiere que los frutos habían alcanzado su tamaño final a partir del estado M1. Los valores de firmeza disminuyeron significativamente entre cada una de las fechas evaluadas observándose una tasa de ablandamiento mayor a medida que se retrasó la cosecha, de 0,7 N/día entre M1 y M2, y de 1 N/día entre el estado M2 y M3 (Tabla 1). El contenido de sólidos solubles varió entre 15,3% y 15,8%, sin presentarse diferencias significativas entre las sucesivas fechas de cosecha, mientras que la acidez titulable disminuyó significativamente desde un valor inicial de 2,32% en M1 hasta un valor final de 1,64% en M3. La única medida de cromaticidad que presentó diferencias significativas entre todas las fechas de cosecha fue la luminosidad (L\*), indicando el oscurecimiento del color de la epidermis a lo largo del período. El desarrollo de color rojo en la pulpa se incrementó significativamente en cada fecha de cosecha, observándose tanto un mayor

porcentaje de frutos afectados como una mayor intensidad de color. Este síntoma de madurez no se observó en los frutos de M1, mientras que afectó al 33% y al 61% en frutos M2 y M3, respectivamente (Tabla 1).



**Figura 1.** Producción de etileno a 20°C después de la cosecha, en ciruelas 'Larry Ann' cosechadas con estado de madurez M1 (◆), M2 (△) y M3 (●). La barra vertical indica el valor de LSD de acuerdo al test de Tuckey ( $\alpha=0,05$ ).

**Tabla 1.** Parámetros de madurez de ciruelas 'Larry Ann' en las fechas de cosecha muestreadas. Cada valor representa la media de 3 muestras de 20 frutos cada una.

	Estado de madurez		
	M1	M2	M3
Peso (g)	99,8 a	99,3 a	92,3 a
Firmeza (N)	62,1 a	50,7 b	35,2 c
SST (%)	15,7 a	15,8 a	15,3 a
AT (%)	2,32 a	2,04 b	1,64 c
<i>Color de la epidermis</i>			
Cobertura (%)	46,7 a	81,7 a	89,4 b
L*	38,6 a	36,2 b	33,6 c
Hue	25,7 a	22,4 a	14,4 b
Croma	23,2 a	21,6 a	15,4 b
<i>Color rojo de pulpa</i>			
Frutos con color (%)	0,0 c	33,3 b	61,7 a
Intensidad de color (1-4)	0,0 c	1,15 b	1,21 a

Dentro de cada fila, los números seguidos por letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tuckey ( $\alpha=0,05$ ).

## Producción de etileno después del almacenamiento

El tratamiento con 1-MCP retrasó la producción de etileno de los frutos almacenados a 0°C, y este efecto disminuyó en los frutos cosechados más maduros y a medida que se extendió el almacenamiento. En los frutos almacenados a 5°C, el tratamiento con 1-MCP no redujo significativamente la producción de etileno (Figuras 2-A, 4-A y 6-A).

Se puede considerar que los frutos no produjeron etileno durante su almacenamiento a 0°C, ya que los valores fueron indetectables inmediatamente después de salida de la cámara a 0°C, para los frutos de las distintas fechas de cosecha. En cambio, la producción de etileno se incrementó durante el periodo de vida en estante observándose claras diferencias entre los tratamientos, que variaron según la fecha de cosecha y la duración del almacenamiento. De esta forma, los frutos control cosechados en M1 presentaron un rápido incremento en la tasa de producción de etileno durante la vida en estante y alcanzaron un claro pico climatérico entre los 5 y 7 días de permanencia a 20°C. La magnitud del climaterio disminuyó a medida que se prolongó el almacenamiento siendo de 70, 48 y 45 nL g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> después de 30, 40 y 50 días a 0°C, respectivamente. Los frutos M1 tratados con 1-MCP manifestaron un retraso en la producción de etileno y requirieron más de 7 días de permanencia a 20°C para alcanzar el pico climatérico (Figura 2-A). Los frutos control cosechados en M2 presentaron menores valores de producción de etileno que los frutos M1 y solo manifestaron un pico climatérico de 40 y 32 nL g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> después de 30 y 40 días de almacenamiento a 0°C. A los 50 días de almacenamiento, las curvas se aplanaron y no se pudo identificar un pico climatérico claro. Los frutos M2 tratados con 1-MCP presentaron menores valores de producción de etileno que los frutos control en todas las evaluaciones, observándose un retraso en la ocurrencia del pico climatérico después de 30 y 40 días de almacenamiento (Figura 4-A). Los frutos control cosechados en M3 presentaron una producción de etileno inferior a los frutos M1 y M2 en todas las evaluaciones de vida en estante, sin presentar los mismos un claro pico climatérico. Al igual que lo observado en M1 y M2, la producción de etileno de los frutos cosechados en M3 disminuyó a medida que se prolongó el periodo de almacenamiento. En esta cosecha, no se observaron diferencias entre la producción de etileno de los frutos control y de aquellos tratados con 1-MCP (Figura 6-A).

A diferencia de lo observado a 0°C, el almacenamiento a 5°C no inhibió completamente la producción de etileno, ya que desde la primera evaluación después de salida de la cámara, los frutos control presentaron valores de producción de etileno que variaron entre 8 y 19 nL g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. Aunque las diferencias no fueron significativas,

los frutos tratados con 1-MCP mostraron valores menores de producción de etileno a la salida de cámara hasta 50 días de conservación, en los frutos M1 (Figura 2-A) y hasta 40 días en frutos M2 (Figura 4-A). No se observaron diferencias en los frutos cosechados en M3 (Figura 6-A). En general, la producción de etileno durante el período de vida en estante fue mayor en los frutos almacenados a 5°C que en los frutos almacenados a 0°C.

## Calidad de los frutos después del almacenamiento

En general, el tratamiento con 1-MCP retrasó la pérdida de firmeza, de acidez y los cambios de color de la epidermis (croma) con respecto a los controles (Figuras 2 a 7). Estas diferencias fueron máximas después de 3 días de vida en estante cuando los frutos se almacenaron a 0°C, mientras que en los frutos almacenados a 5°C las diferencias se observaron principalmente a la salida de cámara, no siendo significativas en general para el restante periodo de vida en estante.

Durante el almacenamiento a 0°C, los frutos control perdieron entre el 25 y el 45% de la firmeza inicial dependiendo del estado de madurez a cosecha y de la duración del almacenamiento, mientras que este porcentaje varió entre un 5 y un 20% en los frutos tratados con 1-MCP. El tratamiento con 1-MCP también redujo el ablandamiento de los frutos durante el período de vida en estante, principalmente después de los 3 días, ya que a los 7 días los frutos alcanzaron valores de firmeza para el consumo independientemente del tratamiento. Cabe destacar que en todas las evaluaciones y para todas las fechas de cosecha, los valores de firmeza de los frutos tratados con 1-MCP después de 3 días de vida en estante fueron iguales o mayores que los valores de firmeza de los frutos control a la salida de cámara (Figuras 2-B, 4-B, 6-B). En general, los frutos control cosechados en M1 mantuvieron mayores valores de AT que los de M2 y éstos que los de M3, tal como fue observado al momento de cosecha. Se observó que los frutos perdieron AT durante la vida en estante y que el tratamiento con 1-MCP redujo estos cambios, principalmente en los frutos M1 (Figuras 3-A, 5-A y 7-A). El croma fue el parámetro de cromaticidad que mejor reflejó los cambios de color de la epidermis durante la vida postcosecha. El 1-MCP retrasó los cambios de color en la epidermis de los frutos cosechados en M1, manteniendo valores de croma significativamente mayores que los frutos control. En cambio, el efecto del 1-MCP fue menor en frutos cosechados en M2 y nulo en frutos cosechados en M3 (Figuras 3-B, 5-B, 7-B). El 1-MCP redujo el desarrollo de color rojo en la pulpa de los frutos cosechados en M1, tanto a salida de cámara (30, 40 y 50 días) como después de 3 días de vida en estante, pero no fue efectivo cuando el periodo de vida en estante fue de 7 días en frutos M2 y M3 (datos no presentados), los cuales presentaban desarrollo de color rojo en la pulpa desde el día de la cosecha (Tabla 1).

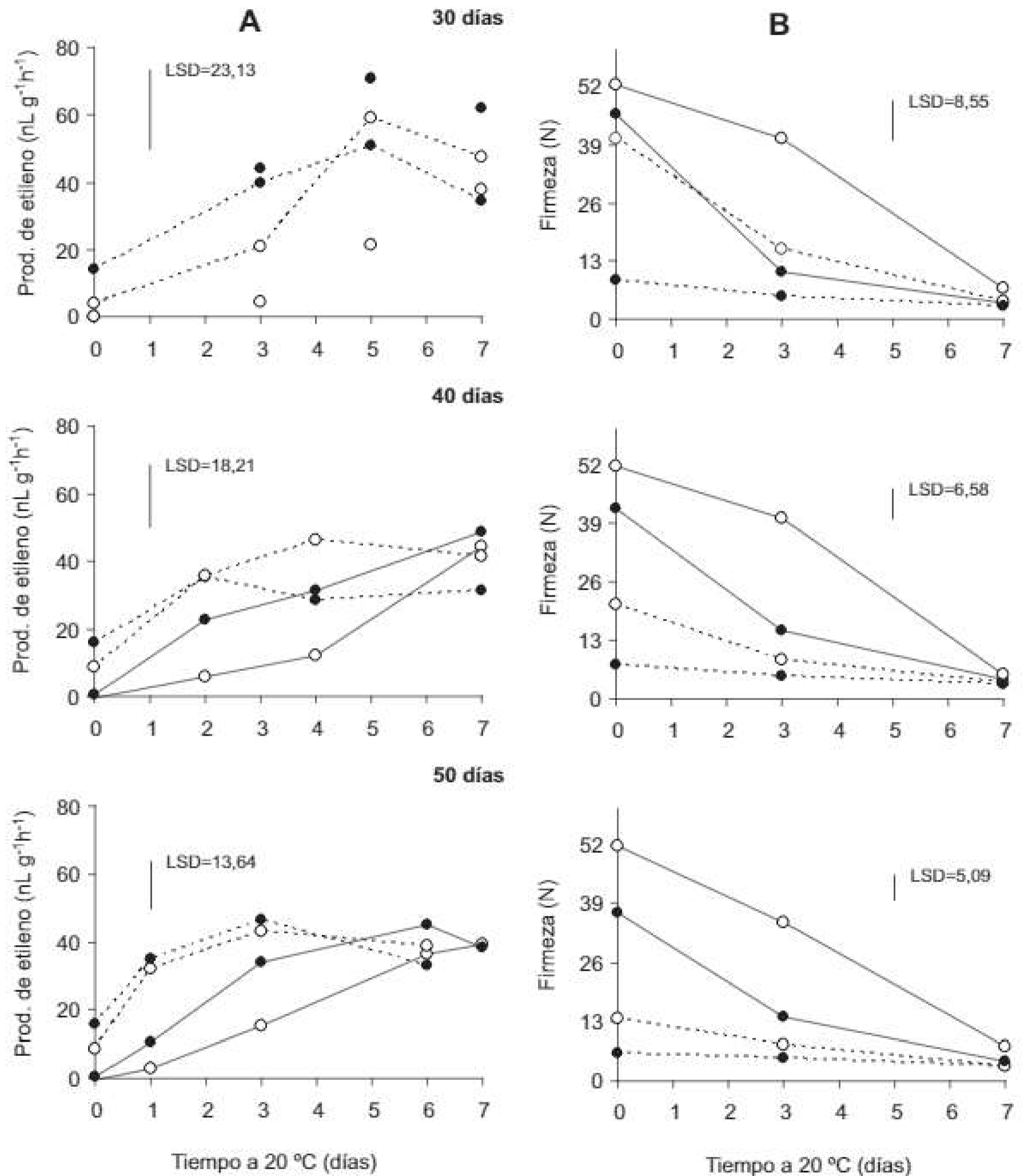
El almacenamiento a 5°C aceleró el proceso de maduración y redujo el potencial de conservación en los frutos. En frutos M1 almacenados durante 30 días, el 1-MCP contrarrestó el efecto negativo de las altas temperaturas, ya que los frutos tratados y almacenados a 5°C presentaron los mismos valores de firmeza, AT y color que los frutos control almacenados a 0°C (Figuras 2 y 3). Sin embargo, en periodos de almacenamiento más prolongados (40 y 50 días) y en los frutos M2, la calidad de los frutos tratados con 1-MCP almacenados a 5°C fue mejor que la de los controles a 5°C pero menor que en los frutos almacenados a 0°C (Figura 4 y 5). Más aún, los frutos cosechados con el estado M3 y almacenados a 5°C no respondieron al tratamiento con 1-MCP y tanto los frutos control como los tratados maduraron completamente durante el almacenamiento. Desde la salida de la cámara, estos frutos presentaron valores de firmeza por debajo de los cuales no pueden seguir ablandándose, por lo cual este parámetro se mantuvo constante entre 6,5 N y 3,5 N durante toda la vida en estante (Figura 6). Similarmente a lo observado con la firmeza, los valores de AT y color de la epidermis se mantuvieron constantes desde la salida de la cámara y durante todo el periodo de vida en estante, oscilando los mismos entre 0,4% y 0,5% y entre 4 y 5 de croma, respectivamente (Figura 7). El desarrollo de color rojo en la pulpa afectó al 100% de los frutos almacenados a 5°C en todas las evaluaciones, independientemente de haber sido o no tratados con 1-MCP (datos no presentados).

El contenido de SST varió inconsistentemente a lo largo del almacenamiento sin observarse diferencias significativas entre los frutos control y los frutos tratados con 1-MCP. Independientemente de la temperatura de almacenamiento, el contenido de SST fue mayor en los frutos cosechados en el estado M3 (15,3 – 17,2%) que en los de M2 (14,3 – 16,1%) y en éstos que en los de M1 (13,4 – 15,5%).

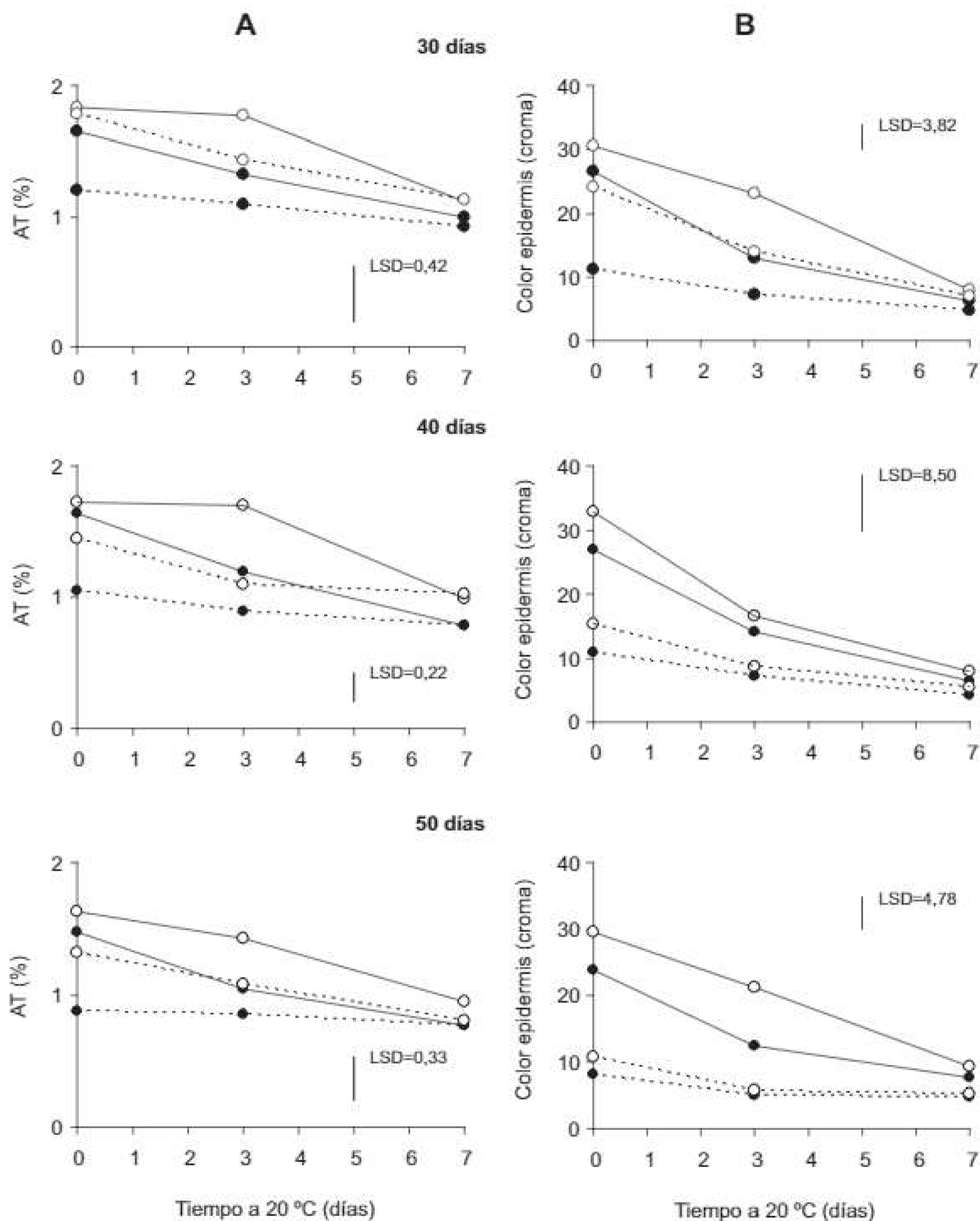
## Daños por frío

La transparencia de la pulpa fue el síntoma más frecuentemente observado. El porcentaje de frutos afectados se incrementó a medida que se prolongó el almacenamiento y la vida en estante, por lo cual se muestran los resultados obtenidos después de 50 días de almacenamiento (Figura 8). El mayor porcentaje de transparencia se observó en los frutos de M2 almacenados a 0°C, seguido luego por los frutos cosechados en M1, y en ambos estados de madurez la severidad máxima observada fue de 2,1 (datos no presentados). Los frutos de M3 presentaron el menor porcentaje de fruta afectada (Figura 8) y la severidad del síntoma no superó el 1,5 (datos no presentados). En las tres fechas de cosecha, los frutos tratados con 1-MCP presentaron un porcentaje de fruta afectada significativamente menor que los frutos control almacenados a 0°C (Figura 8).

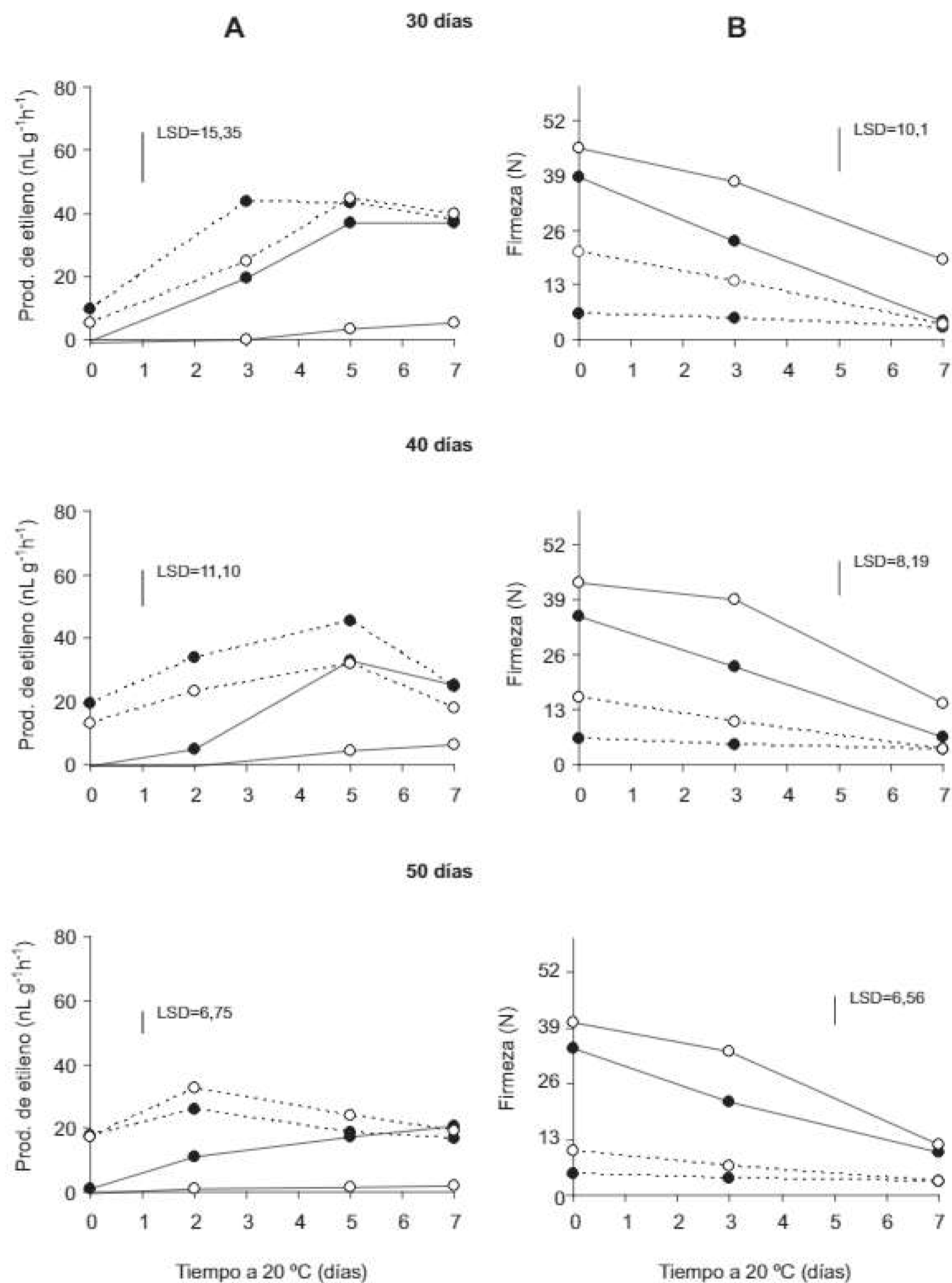
Contrariamente a lo esperado, la fruta almacenada a 5°C presentó menor desarrollo de daños por frío que la fruta almacenada a 0°C (Figura 8). Esto podría deberse a que los síntomas de transparencia pueden verse enmascarados debido al mayor desarrollo de color rojo en la pulpa de los frutos almacenados a esta temperatura.



**Figura 2.** Producción de etileno (A) y valores de firmeza (B) en frutos control (●) y tratados con 1-MCP (○) de ciruelas 'Larry Ann' cosechadas en el estado de madurez M1, durante la vida en estante posterior a los 30, 40 y 50 días de almacenamiento a 0°C (línea entera) o 5°C (línea punteada).

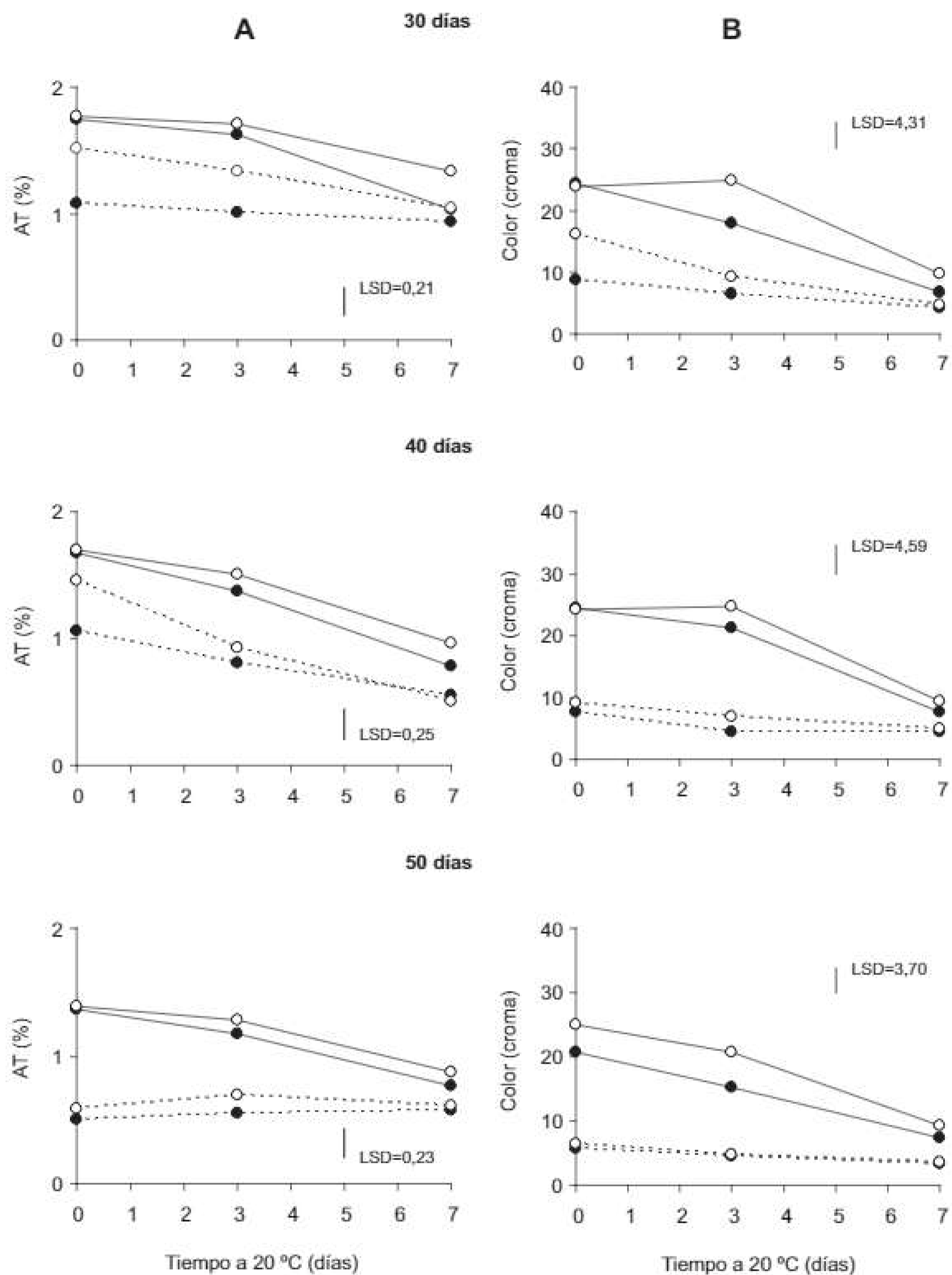


**Figura 3.** Acidez titulable (A) y color de la epidermis (B) en frutos control (●) y tratados con 1-MCP (○) de ciruelas 'Larry Ann' cosechadas en estado de madurez M1, durante la vida en estante posterior a los 30, 40 y 50 días de almacenamiento a 0°C (línea entera) o a 5°C (línea punteada).

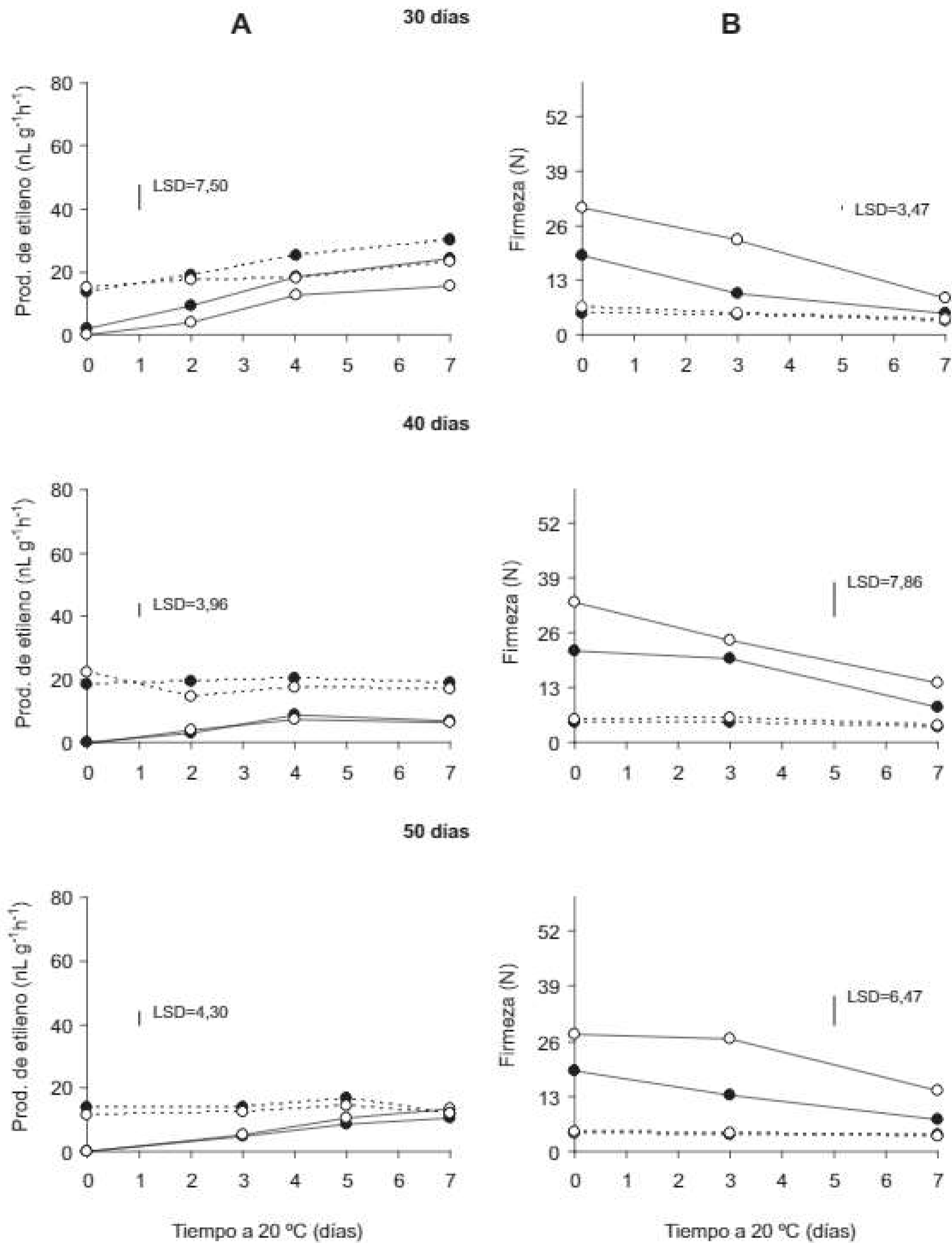


**Figura 4.** Producción de etileno (A) y valores de firmeza (B) en frutos control (●) y tratados con 1-MCP (○) de ciruelas 'Larry Ann' cosechadas en el estado de madurez M2, durante la vida en estante posterior a los 30, 40 y 50 días de almacenamiento a 0°C (línea entera) o 5°C (línea punteada).

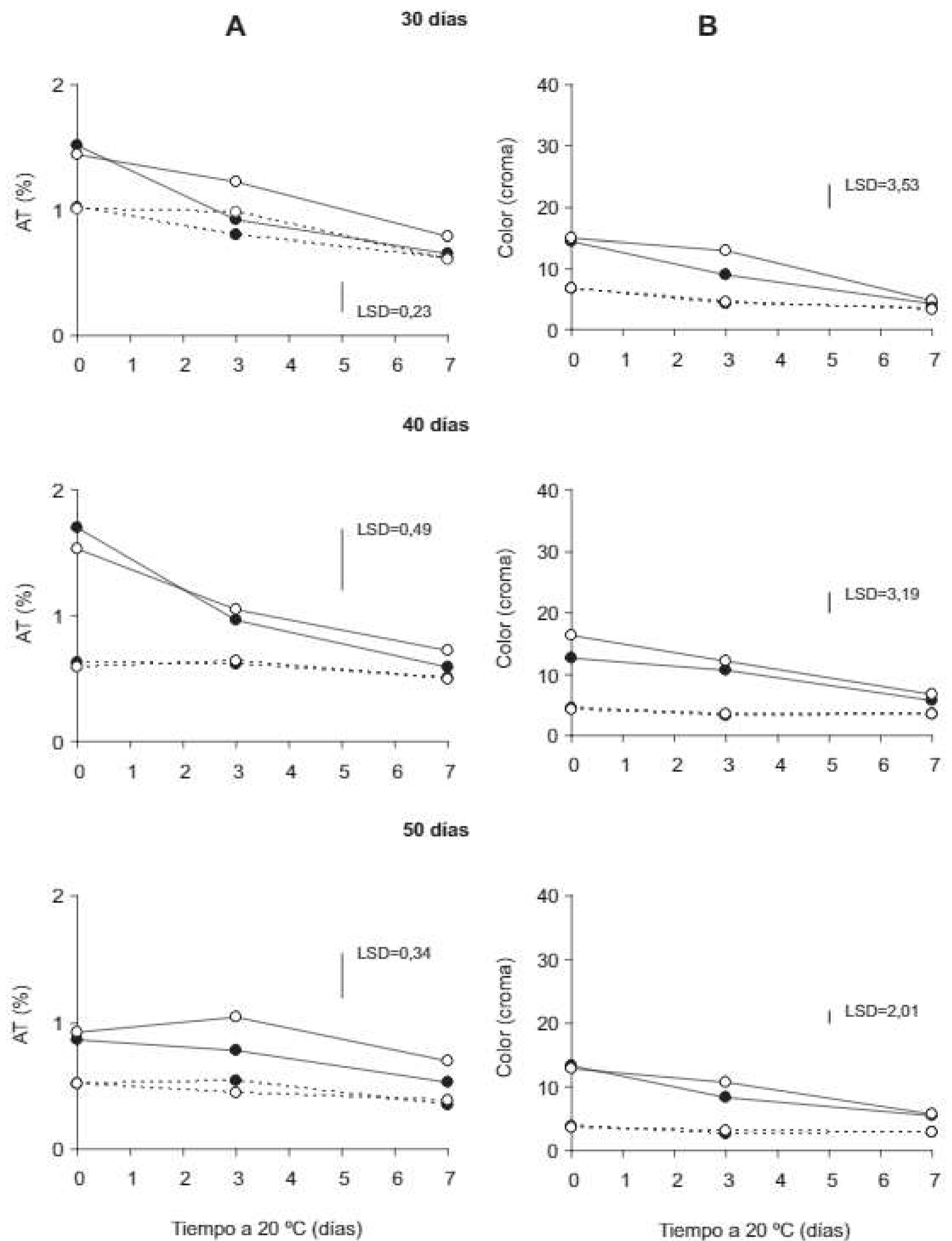




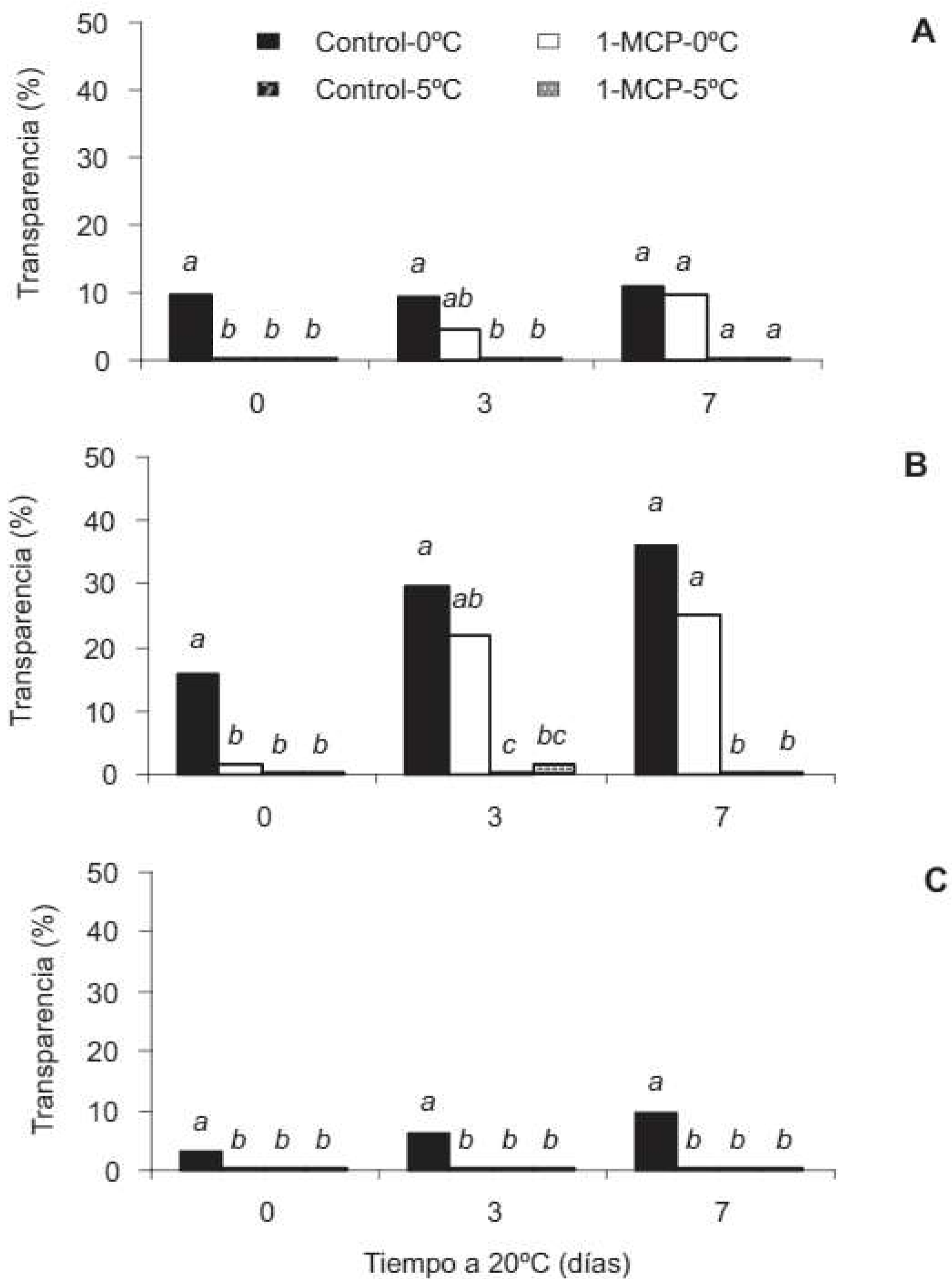
**Figura 5.** Acidez titulable (A) y color de la epidermis (B) en frutos control (●) y tratados con 1-MCP (○) de ciruelas 'Larry Ann' cosechadas en el estado de madurez M2, durante la vida en estante posterior a los 30, 40 y 50 días de almacenamiento a 0°C (línea entera) o a 5°C (línea punteada).



**Figura 6.** Producción de etileno (A) y valores de firmeza (B) en frutos control (●) y tratados con 1-MCP (○) de ciruelas 'Larry Ann' cosechadas en el estado de madurez M3, durante la vida en estante posterior a los 30, 40 y 50 días de almacenamiento a 0°C (línea entera) o 5°C (línea punteada).



**Figura 7.** Acidez titulable (A) y color de la epidermis (B) en frutos control (●) y tratados con 1-MCP (○) de ciruelas 'Larry Ann' cosechadas en el estado de madurez M3, durante la vida en estante posterior a los 30, 40 y 50 días de almacenamiento a 0°C (línea entera) o a 5°C (línea punteada).



**Figura 8.** Porcentaje de frutos afectados con transparencia de la pulpa en ciruelas 'Larry Ann' cosechadas en estados M1 (A), M2 (B) y M3 (C) después de 50 días de almacenamiento a 0°C o 5°C y tras 0, 3 y 7 días de vida en estante a 20°C. Cada columna representa el promedio de 20 frutos.

### Diferencias de madurez observadas al momento de la cosecha

La presencia de un climaterio a continuación de la cosecha indica que los frutos cosechados en los estados M1, M2 y M3 ya habían alcanzado su madurez fisiológica.

A medida que se retrasó la cosecha se observó un adelanto en el inicio de la producción de etileno y del tiempo necesario para alcanzar el máximo climatérico. Abdi et al. (1997b) también observaron que los frutos cosechados en un estado de madurez más avanzado iniciaban la producción de etileno más rápidamente. También pudo observarse que la magnitud del climaterio fue menor en los frutos de cosechas más tardías, similarmente a lo observado en caquis (Nakano et al., 2003) y tomates (Hoeberichts et al., 2002).

La producción de etileno en el día de la cosecha fue indetectable incluso en los frutos cosechados más maduros (M3), lo cual sugiere que existe una inhibición de la producción del etileno en la fruta unida al árbol. Este efecto se conoce como 'factor árbol' y ha sido previamente observado en ciruelas (González et al., 1980; Abdi et al., 1997b). A pesar de ello, los frutos unidos al árbol manifestaron cambios asociados a la maduración, como la pérdida significativa de firmeza y acidez titulable, el oscurecimiento del color de la epidermis y el desarrollo de color rojo en la pulpa. Similarmente, la pérdida de firmeza en ciruelas 'Santa Rosa' comenzó antes de iniciarse la producción de etileno (Zuzunaga et al., 2001). El hecho de que la producción de etileno se mantenga muy baja durante las primeras fases del ablandamiento en ciruelas, sugiere que los cambios observados durante esta etapa podrían deberse a una mayor sensibilidad de los tejidos a etileno, tal como fue propuesto en melocotones (Tonutti et al., 1996). El ablandamiento de los frutos unidos a la planta también podría deberse al agrandamiento celular durante el crecimiento de los mismos (Kader y Mitchell, 1989), pero esto no podría explicar los resultados obtenidos en este trabajo ya que no se observaron diferencias de tamaño entre los frutos de las sucesivas cosechas.

### Efecto del tratamiento con 1-MCP sobre la producción de etileno

En este ensayo, el tratamiento con 1-MCP redujo la tasa de producción de etileno durante el almacenamiento y la vida en estante de los frutos almacenados a 0°C, pero no afectó la producción de etileno en los frutos almacenados a 5°C.

Es sabido que el 1-MCP retrasa la producción de etileno debido a que bloquea los sitios de acción del etileno a nivel celular, impidiendo la autocatálisis de dicha hormona (Binder y Bleecker, 2003). En el presente ensayo, pudo observarse que la producción de etileno se mantuvo completamente inhibida durante el almacenamiento a 0°C. En cambio, los frutos produjeron etileno durante el almacenamiento a 5°C, sugiriendo que a esta temperatura se favoreció la síntesis de nuevos receptores asociados al proceso autocatalítico de producción de etileno. De forma similar se observó también una mayor síntesis de nuevos sitios receptores a 25 °C que a 12 °C (Cameron y Reid, 2001). Se ha descrito también una mayor síntesis de nuevos receptores en bananas a altas temperaturas (Jiang et al., 2002). La mayor generación de nuevos receptores a altas temperaturas, explicaría que el tratamiento con 1-MCP resulte menos efectivo en frutos almacenados a 5°C.

En los frutos almacenados a 0°C la producción de etileno estuvo completamente inhibida durante el almacenamiento a 0°C pero se incrementó rápidamente durante el posterior período de vida en estante. El efecto estimulador de las bajas temperaturas en la producción de etileno a 20 °C se debería a una mayor disponibilidad de ACC tal como fue observado en otras especies como peras y manzanas (Larrigaudière y Vendrell, 1993; Lelièvre et al., 1997b; Larrigaudière et al., 1997). El tratamiento con 1-MCP también redujo la producción de etileno durante la vida en estante de los frutos almacenados a 0°C, lo cual ha sido previamente observado en ciruelas por otros autores (Dong et al., 2002; Martínez-Romero et al., 2003; Salvador et al., 2003a, b). Este efecto sería a causa de una disminución en la actividad de las enzimas implicadas en la biosíntesis del etileno (ACS y ACO) y a una menor acumulación de ACC (Khan y Singh, 2007).

A medida que se retrasó la cosecha y se prolongó el almacenamiento (tanto a 0°C como a 5°C) pudo observarse que las curvas de producción de etileno se aplanaron, es decir que el máximo climatérico fue menos marcado. Asimismo, las diferencias entre los frutos control y los frutos tratados con 1-MCP se reducen. Esta reducción de la capacidad de los frutos de producir etileno después de largos periodos de almacenamiento se debería a que los frutos se encuentran en un estado post-climatérico (Argenta et al., 2003), lo cual coincide con los bajos valores de firmeza y acidez observados en dichos frutos.

## Efecto del tratamiento con 1-MCP sobre la madurez de los frutos

Durante el almacenamiento y la vida en estante, los frutos de las tres cosechas perdieron firmeza, acidez titulable y cambiaron el color de la epidermis y la pulpa, mientras que el contenido de sólidos solubles no varió significativamente. El tratamiento con 1-MCP redujo estos cambios, dependiendo su efectividad de la temperatura de almacenamiento y de la madurez de los frutos al momento de la cosecha.

En los frutos almacenados a 0°C las diferencias de firmeza observadas a la salida de cámara se incrementaron durante el periodo de vida en estante. La tasa de ablandamiento en los frutos control fue mayor que en los frutos tratados con 1-MCP y las diferencias fueron máximas después de 3 días de vida en estante, independientemente de la fecha de cosecha y del tiempo de almacenamiento. En los frutos almacenados a 5°C, las diferencias de firmeza entre los frutos tratados y los frutos control fueron mayores a la salida de cámara y se redujeron durante la vida en estante. Estas diferencias solo se observaron en los frutos cosechados en los estados M1 y M2, pero no hubo ninguna diferencia en los frutos cosechados en M3 y almacenados a 5°C.

Se considera que 26 N es el valor mínimo de firmeza para reducir la sensibilidad de las ciruelas al daño mecánico durante la manipulación (Crisosto et al., 2001, Valero et al., 2007). De acuerdo con este umbral, el tratamiento con 1-MCP posibilita que los frutos de cosechas tardías (M3) puedan almacenarse durante 30 días a 0°C. La aplicación de 1-MCP por inmersión también fue efectiva en reducir el proceso de maduración de ciruelas 'Howard Sun' (Manganaris et al., 2008).

Asimismo, los frutos almacenados a 5°C solo conservaron una buena calidad general cuando se cosecharon en el estado M1 y fueron tratados con 1-MCP. Manganaris et al. (2007) también observaron que el tratamiento con 1-MCP mantiene la calidad de ciruelas 'Howard Sun' almacenadas a 5°C. De estos resultados también se desprende que el manejo de la temperatura debe ser aún más cuidadoso cuando los frutos han sido cosechados en un estado de madurez avanzado.

La firmeza recomendada para el consumo de ciruelas de pulpa blanda varía entre 8 y 15 N (Neri, 2003). De esta forma, los frutos control almacenados a 0°C alcanzaron valores

de firmeza para consumo después de 3 días de vida en estante, mientras que los frutos tratados con 1-MCP requirieron más días. Por su parte, los frutos control almacenados a 5°C estuvieron sobremaduros desde la salida de cámara, y los tratados con 1-MCP estuvieron aptos para consumo hasta después de 50 ó 40 días en frutos M1 y M2, respectivamente. La mayor retención de la firmeza en los frutos tratados demuestra la dependencia entre este parámetro y la producción de etileno, tal como ha sido observado por otros autores (Lelièvre et al., 1997a).

El desarrollo del color puede ser tanto dependiente como independiente del etileno (Lelièvre et al., 1997a) lo cual varía según la variedad de ciruela (Abdi et al., 1997b). Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican que el cambio de color durante la maduración de ciruelas 'Larry Ann' es dependiente de etileno ya que los mismos se ven retrasados en presencia de 1-MCP, lo cual coincide con lo observado en ciruelas 'Laetitia' (Argenta et al., 2003). Entre los parámetros de color de la epidermis evaluados, el croma fue el que mejor reflejó los cambios observados durante la maduración de los frutos, produciéndose una marcada intensificación del color a lo largo de dicho proceso.

En este ensayo, los frutos tratados con 1-MCP mantuvieron mayores valores de AT, lo cual podría atribuirse a la reducción del proceso respiratorio tal como fue observado en otras variedades de ciruelas (Salvador et al., 2003a, b). La relación entre el contenido de sólidos solubles y la acidez titulable es un índice comúnmente utilizado para valorar la calidad gustativa de los frutos (Crisosto et al., 2004; Hoehn et al., 2005). Si bien el tratamiento con 1-MCP retrasó la pérdida de acidez, los valores de AT al momento de alcanzar la firmeza para consumo fueron similares a los de los frutos control.

Los resultados obtenidos en este ensayo indican que la eficiencia del tratamiento con 1-MCP se ve reducida cuando se trata fruta con un estado de madurez más avanzado, tal como fue previamente observado en damascos (Fan et al., 2000), bananas (Harris et al., 2000) y manzanas (Calvo, 2002). Sin embargo, a pesar de que el tratamiento fue menos efectivo, los resultados indican que este tratamiento posibilita el almacenamiento a 0°C de ciruelas 'Larry Ann' de cosecha tardías (M3), al igual que fue observado en manzanas 'Red Delicious' (Calvo, 2002), tomates (Guillén et al., 2006), melocotones y nectarinas (Liguori et al., 2004) y ciruelas 'Presidente' (Valero et al., 2003). El hecho de que el 1-MCP permita retrasar el proceso de maduración aún en frutos con un estado de madurez avanzado, sugiere que esta hormona es necesaria no solo para disparar este proceso sino para que el mismo continúe una vez que ha sido iniciado, tal como fue propuesto en tomates (Hoeberichts et al., 2002).



La reducción de la eficiencia del tratamiento con 1-MCP en frutos de cosechas tardías, tal como se ha observado en este trabajo y en ciruelas 'Presidente' (Valero et al., 2003), podría deberse a que dichos frutos recuperan su capacidad de producir nuevos receptores en menos tiempo que los frutos cosechados más inmaduros. También puede haber ocurrido que los frutos cosechados más maduros (M3) presentaban un mayor número de receptores al momento de la aplicación, por lo que la dosis aplicada podría resultar insuficiente. Por este motivo, algunos autores proponen que los frutos con alta tasa de producción de etileno o cosechados con un estado de madurez más avanzado deben ser tratados con dosis mayores de 1-MCP o bien deben recibir una segunda aplicación (Dong et al., 2002).

Se sabe que la efectividad del tratamiento con 1-MCP en manzanas depende de la tasa de producción de etileno de los frutos al momento del tratamiento (Tatsuki et al., 2007). En el presente ensayo, la producción de etileno al momento del tratamiento fue igual y cercana a cero en las tres fechas de cosecha. Esto sugiere que la eficiencia del tratamiento con 1-MCP no depende de la producción de etileno de los frutos en el momento del tratamiento sino de la capacidad de los frutos para producir nuevos receptores y recuperar la sensibilidad al etileno. Asimismo, pudo observarse que este proceso ocurre más rápidamente en los frutos de cosechas tardías que en los de cosechas tempranas, y en los frutos almacenados a 5°C que en los almacenados a 0°C.

## Efecto del 1-MCP sobre el desarrollo de daños por frío

Según los resultados obtenidos, los lotes tratados con 1-MCP presentaron un menor porcentaje de frutos afectados por daños por frío, lo cual coincide con lo observado en otros trabajos presentados en esta tesis (Capítulos 3, 5 y 6).

Hasta el momento, los trabajos realizados con la finalidad de establecer la relación entre la madurez de los frutos al momento de la cosecha y su sensibilidad a los daños por frío han arrojado resultados inconsistentes en ciruelas (Taylor et al., 1995; Abdi et al., 1997a; Plich, 1999; Kruger et al., 2003). En este trabajo, pudo observarse que los frutos de cosechas más tempranas (M1 y M2) fueron más propensos a manifestar síntomas de transparencia que los frutos de cosechas tardías (M3). Resultados similares se observaron con esta variedad en otros trabajos presentados en esta tesis (Capítulo 5).

Se demostró también que el desarrollo de daños por frío fue menor en frutos almacenados a 5°C, contrariamente a lo observado por otros autores en ciruelas (Crisosto et al., 1999), melocotones y nectarinas (Kader y Mitchell, 1989; Lill et al.,

1989). Estas diferencias podrían deberse a la incidencia de factores precosecha o a diferencias en la madurez inicial de los frutos utilizados en los diferentes estudios. Asimismo, es importante considerar que en los frutos de cosechas tardías y/o almacenados a 5°C, podría dificultarse la visualización de síntomas de transparencia o pardeamiento debido al enmascaramiento de los mismos por el desarrollo de color rojo en la pulpa.

---

## REFERENCIAS

---

- Abdi, N., Holford, P., Mc Glasson, W.B., 1997a.** *Effects of harvest maturity on the storage life of Japanese type plums. Australian Journal of Experimental Agriculture, 37: 391-397.*
- Abdi N., Holford P., Mc Glasson W.B., Mizrahi Y. 1997b.** *Ripening behaviour and responses to propylene in four cultivars of Japanese type plums. Postharvest Biology and Technology, 12: 21-34.*
- Amorim, L., Martins, M.C., Lourenço, S.A., Gutierrez, A.S.D., Abreu, F.M., Gonçalves, F.P. 2008.** *Stone fruit injuries and damage at the wholesale market of Sao Paulo, Brazil. Postharvest Biology and Technology, 47: 353-357.*
- Argenta, L.C., Krammes, J.G., Megguer, C.A., Amarante, C.V.T., Mattheis, J. 2003.** *Ripening of 'Laetitia' plums following harvest and cold storage as affected by inhibition of ethylene action. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 38 (10): 1139-1148.*
- Binder, B.M., Bleecker, A.B., 2003.** *A model for ethylene receptor function and 1-methylcyclopropene action. Acta Horticulturae, 628: 177-187.*
- Cameron, A.C., Reid, M.S. 2001.** *1-MCP blocks ethylene induced petal abscission of *Pelargonium peltatum* but the effect is transient. Postharvest Biology and Technology, 22: 169-177.*
- Calvo, G. 2002.** *Efecto del 1-metilciclopropeno (1-MCP) en manzanas Red Delicious cosechadas con tres estados de madurez y conservadas en frío convencional y atmósfera controlada. Revista de Investigaciones Agropecuarias, 31 (3): 9-24.*
- Candan, A.P. 2003.** *Postcosecha de frutos de carozo: Efectos de la aplicación de 1-MCP en ciruelas. Rompecabezas tecnológico. Octubre, noviembre, diciembre, 2003. Año 9. N°39: 30-35.*
- Crisosto, C. H., Slaughter, D., Garner, D. Boyd, J. 2001.** *Stone fruit critical bruising thresholds. Journal American Pomological Society, 55(2): 76-81.*
- Crisosto, C., Mitchell, G.F., Ju, Z. 1999.** *Susceptibility to chilling injury of peach, nectarine and plum cultivars grown in California. HortScience, 34 (6): 1116-1118.*
- Crisosto, C.H., Garner, D., Crisosto, G.M. 2004.** *Increasing 'Blackamber' plum (*Prunus salicina* Lindell) consumer acceptance. Postharvest Biology and Technology, 34: 237-244.*

- Dong, L., Lurie, S., Zhou, H.W. 2002.** *Effect of 1-methylcyclopropene on ripening of 'Canino' apricots and 'Royal Zee' plums. Postharvest Biology and Technology, 24: 135-145.*
- Fan, X. Argenta, L., Mattheis, J.P. 2000.** *Inhibition of ethylene action by 1-methylcyclopropene prolongs storage life of apricots. Postharvest Biology and Technology, 20: 135-142.*
- González, G., Kader, A.A., Mitchell, F.G. 1980.** *Factors affecting ripening of selected plum varieties. HortScience 15, 149.*
- Guillén, F., Castillo, S., Zapata, P.J., Martínez-Romero, D., Valero, D., Serrano, M. 2006.** *Efficacy of 1-MCP treatment in tomato fruit 2. Effect of cultivar and ripening stage at harvest. Postharvest Biology and Technology, 42: 235-242.*
- Harris, D.R., Seberry, J.A., Wills, R.B.H., Spohr, L.J. 2000.** *Effect of fruit maturity on efficiency of 1-methylcyclopropene to delay the ripening of banana. Postharvest Biology and Technology, 20: 303-308.*
- Hartmann, P.E.O.; De Kock, V.A.; Taylor, M.A. 1988.** *Picking maturities and cold storage requirements of Songold plums. Deciduous Fruit Grower, 38: 161-163.*
- Hoeberichts, F.A., Van Der Plas, L.H.W., Woltering, E.J. 2002.** *Ethylene perception is required for the expression of tomato ripening-related genes and associated physiological changes even at advanced stages of ripening. Postharvest Biology and Technology, 26: 125-133.*
- Hoehn, E., Gasser, F., Naepflin, B., Ladner, J. 2005.** *Consumer expectations and soluble solids, acidity and firmness of plums (*Prunus domestica* 'Cacaks Beauty'). Acta Horticulturae, 682: 665-672.*
- Jiang, Y., Joice, D.C., Macnish, A.J. 2002.** *Softening response of banana fruit treated with 1-methylcyclopropene to high temperature exposure. Plant Growth Regulation, 36: 7-11.*
- Kader, A.A., Mitchell, F.G. 1989.** *Maturity and quality. En: La Rue, J.H., Johnson, R.S (Eds.). Peaches, plums and nectarines: Growing and handling for fresh market. Univ. Calif. Dept. of Agric. and Nat. Res. Publication N° 3331, pp. 191-196.*
- Khan, A.S., Singh, Z. 2007.** *1-MCP regulates ethylene biosynthesis and fruit softening during ripening of 'Tegan Blue' plum. Postharvest Biology and Technology, 43: 298-306.*
- Kruger, L., Cook, N., Holcroft, D.M. 2003.** *Quality of Japanese plums as influenced by*

time of harvest and rate of ethylene production. *Acta Horticulturae*, 600: 453-456.

**Larrigaudière, C., Vendrell, M. 1993.** Short-term activation of the conversion of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid to ethylene in rewarmed Granny Smith apples. *Plant Physiol. Biochemistry*, 31(4): 585-591.

**Larrigaudière, C., Graell, J., Salas, J., Vendrell, M. 1997.** Cultivar difference in the influence of a short period of cold storage on ethylene biosynthesis in apples. *Postharvest Biol. Technology*, 10: 21-27.

**Lelièvre J.M., Latché A., Jones B., Bouzayen M., Pech J.C. 1997a.** Ethylene and fruit ripening. *Physiologia Plantarum*, 101: 727-739.

**Lelièvre, J.M., Tichit, L., Dao, P., Fillion, L., Nam, Y.W., Pech, J.C., Latché, A. 1997b.** Effects of chilling on the expression of ethylene biosynthetic genes in Passe-Crassane pear (*Pyrus communis* L.) fruits. *Plant Molecular Biology*, 33: 847-55.

**Liguori, G., Weksler, A., Zutahi, Y., Lurie, S., Kosto, I. 2004.** Effect of 1-methylcyclopropene on ripening of melting flesh peaches and nectarines. *Postharvest Biology and Technology*, 31: 263-268.

**Lill, R. E.; O'Donogue, E. M.; King, G. A. 1989.** Postharvest physiology of peaches and nectarines. *Horticultural Reviews*, 11: 413-452.

**Manganaris, G.A., Crisosto, C.H., Bremer, V., Holcroft, D. 2008.** Novel 1-methylcyclopropene immersion formulation extends shelf life of advanced maturity 'Joanna Red' plums. *Postharvest Biology and Technology*, 47: 429-433.

**Manganaris, G.A., Vicente, A.R., Crisosto, C.H., Labavitch, J.M. 2007.** Effect of dips in a 1-methylcyclopropene-generating solution on 'Harrow Sun' plums stored under different temperature regimes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 7015-7020.

**Martínez-Romero, D., Dupille, E., Guillén, F., Valverde, J.M., Serrano, M., Valero, D. J. 2003.** 1-methylcyclopropene increases storability and shelf life in climacteric and nonclimacteric plums. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51 (16): 4680-4686.

**Menniti, A.M., Gregori, R, Donati, I., 2004.** 1-Methylcyclopropene retards postharvest softening of plums. *Postharvest Biology and Technology*, 31: 269-275.

**Nakano, R. Ogura, E., Yasukata, K., Inaba, A. 2003.** Ethylene biosynthesis in detached young persimon fruit is initiated in calyx and modulated by water loss from the fruit. *Plant Physiology*, 131: 276-286.

- Neri, F. 2003.** *Influence of maturity stage and ripening on sensory quality of peaches, nectarines and plums. Proceedings of Eufirin Workshop on Fruit Quality, 11-14 June, Bologna, Italy: 141-142.*
- Plich, H. 1999.** *The effect of storage conditions and date of picking on storability and quality of some plum (Prunus domestica L.) fruit cultivars. Acta Horticulturae, 485: 301-307.*
- Salvador, A., Cuquerella, J., Martínez Jávega, J.M. 2003a.** *1-MCP treatment prolongs postharvest life of Santa Rosa plums. Journal of Food Science, 68 (4): 1504-1510.*
- Salvador, A., Cuquerella, J., Úbeda, S. 2003b.* *1-methylcyclopropene delays ripening process of Black Diamond plums. Acta Horticulturae, 599: 59-63.*
- Skog, L.J., Schaefer, B.H. and Smith, P.G. 2001.** *1-methylcyclopropene preserves the firmness of plums during postharvest storage and ripening. Acta Horticulturae, 553:171-172.*
- Tatsuki, M., Endo, A., Ohkawa, H. 2007.** *Influence of time from harvest to 1-MCP treatment on apple fruit quality and expression of genes for ethylene biosynthesis enzymes and ethylene receptors. Postharvest Biology and Technology 43, 28-35.*
- Taylor, M.A., Rabe, E., Jacobs, G., Dodd, M.C. 1995.** *Effect of harvest maturity on pectic substances, internal conductivity, soluble solids and gel breakdown in cold stored 'Songold' plums. Postharvest Biology and Technology, 5: 285-294.*
- Tonutti, P., Bonghi, C., Ramina, A. 1996.** *Fruit firmness and ethylene biosynthesis in three cultivars of peach (Prunus persica L. Batsch). Journal of horticultural Science, 71 (1): 141-147.*
- Valero, C., Crisosto, C.H., Slaughter, D. 2007.** *Relationship between nondestructive firmness measurements and commercially important ripening fruit stages for peaches, nectarines and plums. Postharvest Biology and Technology, 44: 248-253.*
- Valero, D., Martínez-Romero, D., Valverde, J.M., Guillén, F., Serrano, M., 2003.** *Quality improvement and extension of shelf life by 1-methylcyclopropene in plum as affected by ripening stage at harvest. Innovative Food Sciences and Emerging Technologies, 4: 339-348.*
- Zuzunaga, M., Serrano, M., Valero, D., Martínez-Romero, Riquelme, F. 2001.** *Responses to ethylene treatments in two plum cultivars. Acta Horticulturae, 553: 179-180.*

## CAPÍTULO 3

### ROLES OF CLIMACTERIC ETHYLENE IN THE DEVELOPMENT OF CHILLING INJURY IN PLUMS

Ana Paula Candan<sup>1</sup>  
Jordi Graell<sup>2</sup>  
Christian Larrigaudière<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Postharvest, INTA Alto Valle, CC 782 (8338), General Roca, Río Negro, Argentine.

<sup>2</sup> UdL-IRTA, Postharvest Dpt, CeRTA, Rovira Roure 191, 25198 Lleida, Spain.

**Publicado en:**

Postharvest Biology and Technology, 2008, 47 (1): 107-112





---

## ABSTRACT

---

The aim of this work was to study the relationship between ethylene production and chilling injury sensibility in climacteric (*Prunus x salicina* cv. 'Larry Ann') and suppressed climacteric (*Prunus x salicina* cv. 'Angeleno') plums. Both cultivars were stored at 0°C and treated with 0 or 400 nL L<sup>-1</sup> 1-MCP. In order to confirm our results, in a second year the suppressed climacteric cultivar was treated with exogenous ethylene and then stored at 0°C. Changes in the kinetics of ethylene production associated with storage and symptoms of chilling injury were assessed both immediately after removal and during shelf life. The first chilling symptoms were observed in 'Larry Ann' plums after 30 days of storage, whereas 'Angeleno' fruit remained healthy until the end of the experimental period. The incidence of chilling symptoms in 'Larry Ann' plums was clearly related to a cold-induced increase in their ability to produce ethylene after removal. Concomitant changes in membrane permeability were also observed for this cultivar. The incidence of chilling symptoms was clearly reduced, reaching the same level as the suppressed climacteric 'Angeleno' cultivar, when 'Larry Ann' was treated with 1-MCP. To further support this result, we observed that the suppressed climacteric cultivar treated with ethylene exhibited a higher incidence of disorders after long term storage. Collectively, these results showed that chilling injury in plums was related to the climacteric behaviour of the cultivar and that 1-MCP may be an interesting tool with which to prevent this disorder.

*Keywords: plums, chilling injury, ripening, 1-MCP, ethylene*

---

## INTRODUCTION

---

Plums have a limited postharvest life due to their elevated rate of ripening and high sensitivity to chilling injury (CI) after cold storage. Flesh browning and flesh translucency are two of the main CI symptoms observed and mainly depend on the cultivar and storage temperature (Crisosto et al., 1999). Flesh browning (internal breakdown) appears as a brown discolouration of the flesh. It starts below the epidermis and is due to the enzymatic oxidation of polyphenols and tannins (Dodd, 1984). Flesh translucency (gel breakdown) manifests itself as a translucent gelatinous breakdown of the mesocarp tissue around the stone and is related to changes in membrane permeability and to the presence of water-soluble pectins (Taylor et al., 1993; Taylor, 1996). Although these symptoms mainly develop during shelf life following cold storage, changes in membrane permeability have been observed before these symptoms appear (Taylor et al., 1993).

Many trials have been carried out to study the relationship between ethylene production and ripening in plums, but its role in CI development is still unknown. 1-methylcyclopropene (1-MCP), an inhibitor of ethylene action, has been extensively used to control ripening. 1-MCP treatment has generally proved to be effective in controlling loss of firmness, acidity and changes in the epidermis colour of plums (Dong et al., 2002; Martinez-Romero et al., 2003; Menniti et al., 2004; Candan et al., 2006). This treatment also reduces the incidence of internal breakdown in Fortune plums (Menniti et al., 2004). On the other hand, ethylene treatment of 'Red Rosa' plums had no significantly effect on the incidence of flesh browning (Dong et al., 2001).

Previous research in plums showed that sensibility to chilling injury is higher in late-harvested than in early-harvested fruit (Taylor et al., 1993; Abdi et al., 1997). It is also known that the symptoms of chilling injury develop faster at 5°C than at 0°C and mainly during the shelf life period (Crisosto et al., 1999). Furthermore, a delay in cooling fruit after harvest was associated with a reported increase in flesh browning during the storage of 'Blackamber' plums (Candan, unpublished results). Collectively, these results suggest that chilling injury in plums is probably related to an increase in the rate of ripening. They also highlight the putative role of ethylene in this context.

The aim of this work was to confirm this role. For this purpose, experiments were carried out on two cultivars with differing climacteric behaviour. 1-methylcyclopropene was also used to inhibit ethylene production in both cultivars,

while ethylene was applied exogenously to induce the climacteric process in the suppressed climacteric cultivar. In both cultivars, relationships with the incidence of chilling injury were established in order to determine the role that this hormone may play in the induction of this disorder in plums.

---

## MATERIAL AND METHODS

---

### Plant material

Japanese type plums (*Prunus salicina*) 'Larry Ann' and 'Angeleno' were used in these experiments. Both cultivars were harvested according to firmness standards on 9 February 2005 ('Larry Ann'), 28 February 2005 ('Angeleno') and 8 March 2006 ('Angeleno') at a commercial orchard in Río Negro, Argentina. Immediately after harvest, the fruit were transported to the laboratory and 3 samples (each of 20 fruit) were used to characterize maturity at harvest. After washing them with water and treating them with fungicide (Rovral 100 g hL<sup>-1</sup>), the fruit of both cultivars were cooled, treated with 1-methylcyclopropene (1-MCP) and then stored at 0°C.

### General protocols

Two different trials were carried out. In the first, both climacteric ('Larry Ann') and suppressed climacteric ('Angeleno') cultivars were cooled immediately after harvest (24 hours at 0°C) and treated with 0 or 400 nL L<sup>-1</sup> of 1-MCP for 24 hours at 0°C. The fruit were then stored at 0°C for up to 60 days.

In the second trial, the suppressed climacteric cultivar was treated as above and a complementary assay was carried out which involved treating the fruit with 1000 L L<sup>-1</sup> of ethylene for 24 hours at 0°C. Fruit were stored at 0°C for up to 70 days.

### 1-MCP treatment

1-MCP treatment was performed in sealed 0.86 m<sup>3</sup> chambers. The amount of Smartfresh™ (Agrofresh, Inc., Rohm and Haas, Spring House, PA, USA) needed to obtain 400 nL L<sup>-1</sup> of 1-MCP in this chamber was weighed in powder form and placed in a sealed 250 mL bottle. 20 mL of water (at 45°C) were added to the bottle to release the 1-MCP. After mixing the solution, the bottle was opened inside the chamber.

1-MCP treatment was carried out for 24 hours at 0°C. The chamber was then aerated and closed for the rest of the storage period.

### Determination of membrane permeability and ethylene production

Electrolyte leakage (%) was assessed immediately after removal from cold storage, using 6 replicates of 2 g of flesh tissue cut into 11 mm diameter disks and placed in a 40 mL 0.4 M mannitol. After incubation at 25 C for 1 h, the conductivity of the suspension was measured with a conductimeter (Cole Palmer 19820-00). The disks were then removed from the suspension and frozen for 24 hours. The frozen disks were crushed with a mortar and total conductivity was determined after adding the initial solution. The percentage of electrolyte leakage was taken as the ratio (x100) of conductivity measurements before and after freezing.

To determine ethylene production, fruit (4 replicates, each of six fruit) were weighed and then enclosed in 3-litre airtight jars. After 30 minutes, air samples were taken from the headspace using a 1 mL syringe and were injected into a gas chromatograph (Shimadzu 14-A) equipped with an activated alumina column (50 x 80 mm) and a FID detector. Gas analysis was conducted isothermally at 80°C. The injector and detector temperatures were held at 180°C and 210°C, respectively. Helium was used as the carrier gas. After different storage times at 0°C, the kinetic of the ethylene production was carried out at 20°C. The number of days required to reach the climacteric peak and the magnitude of this peak were used to compare the climacteric behaviour of the different cultivars in relation to storage times and treatments.

### Chilling injury assessment

The incidence of chilling injury was assessed on 3 replicates (each of 20 fruit) after 30, 40, 50 and 60 days of storage, immediately after removal from storage, and after 3, 7 and 11 days of shelf life at 20°C.

Symptoms of chilling injury were visually assessed by cutting each fruit in half along its equatorial axis and determining the percentage of fruit affected and also the severity of the symptoms.

## Data processing and statistical analysis

Data corresponding to the ethylene analysis and electrolyte leakage were checked for significant differences by applying variance analysis (ANOVA) using the Statistical Analysis System (SAS) statistical package. They were then subjected to mean separation by the Least Significant Difference (LSD) test, ( $p < 0.05$ ). The others figures present mean values  $\pm$ SD.

---

## RESULTS

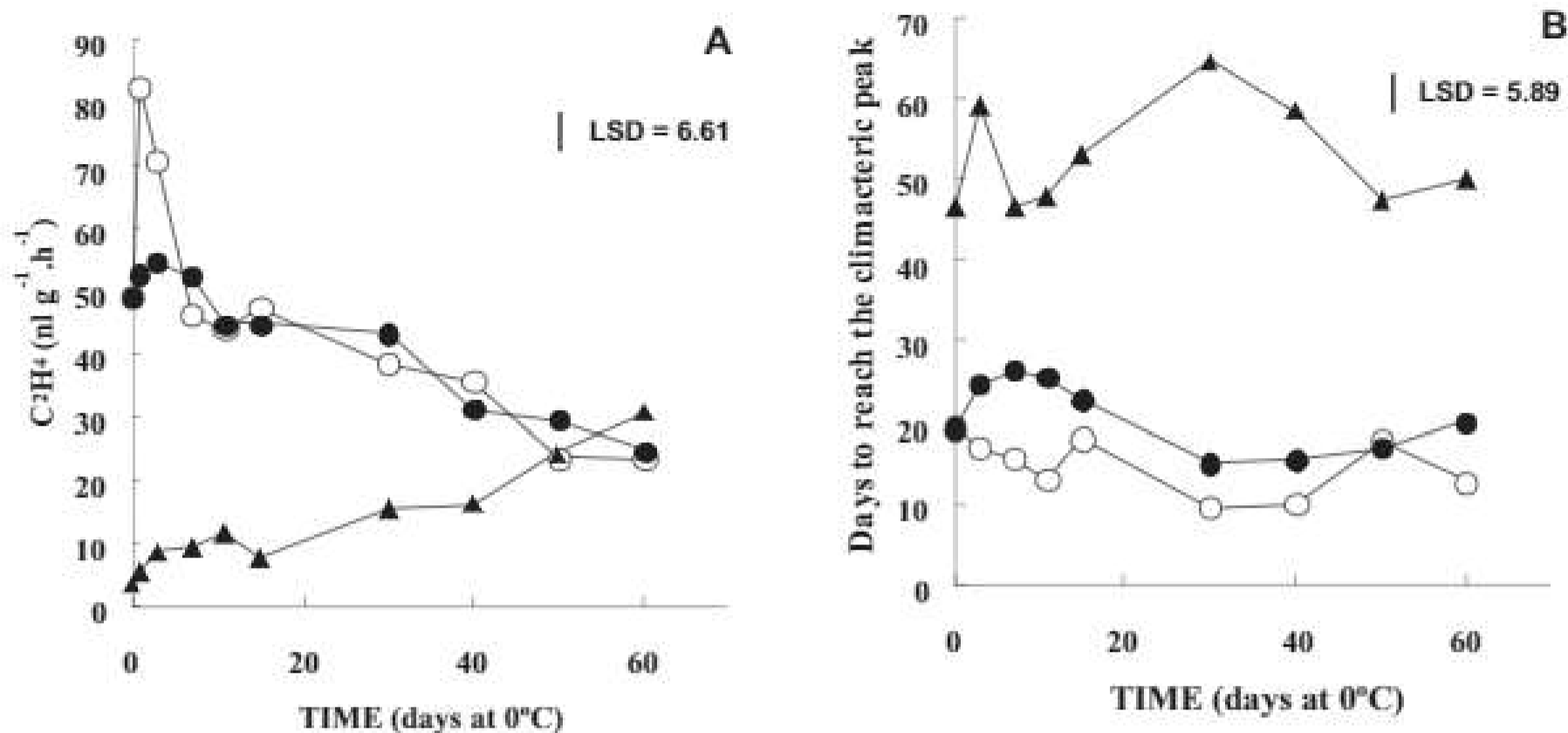
---

### Cold-induced changes in ethylene production in the different cultivars (climacteric peak and number of days to reach this peak).

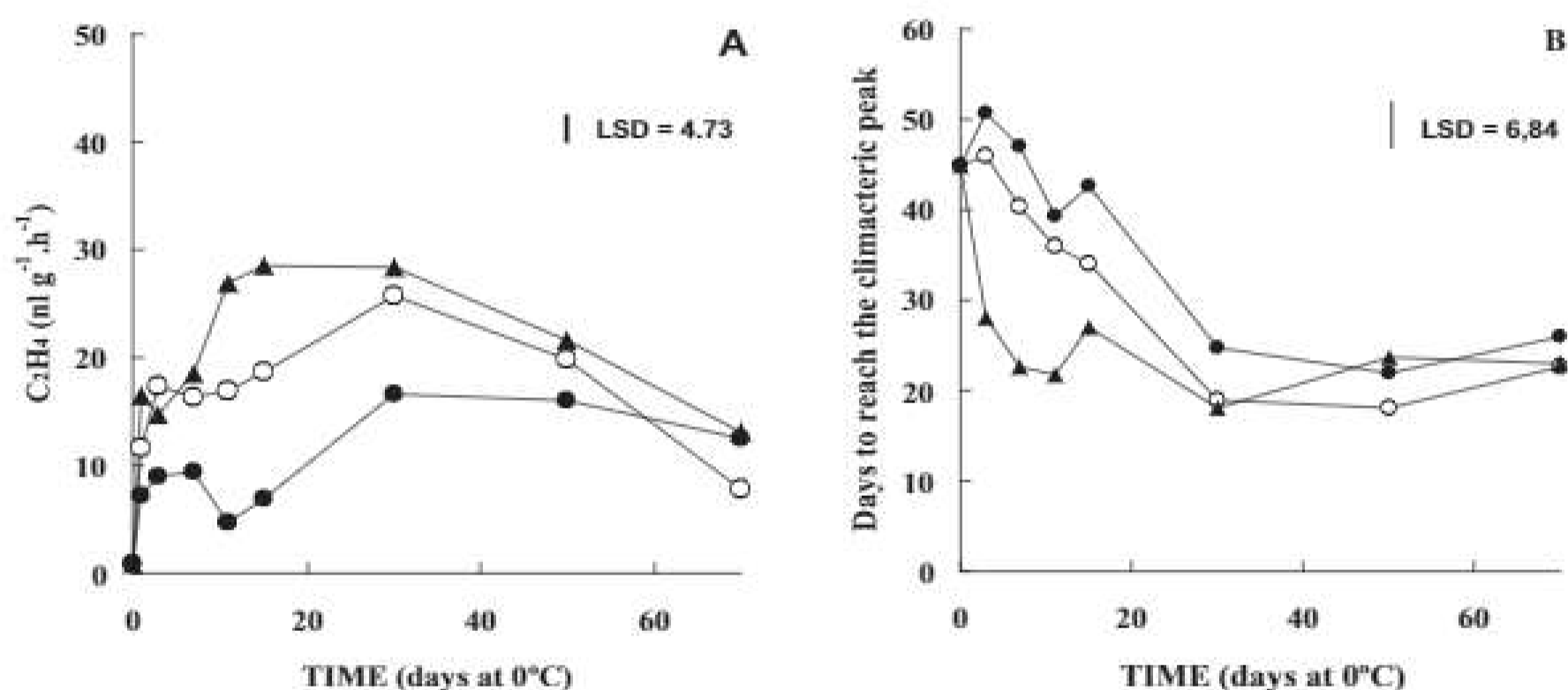
Each point in figures 1A and 2A represents the value of maximal ethylene production (climacteric peak) observed after each cold storage time. To determine these values, fruit were removed from cold storage and kept at 20°C for further ripening.

The magnitude of the climacteric peak and the number of days required to reach it were cultivar dependent and clearly affected by exposure to low temperatures (Figure 1A). In general, the magnitude of the ethylene peak was higher in the climacteric cultivar ('Larry Ann') than in the suppressed climacteric cultivar ('Angeleno'). In the first cultivar, a two-fold increase in maximal ethylene production was observed after 1 and 3 days of exposure at 0°C. 1-MCP treatment clearly controls this change. A progressive decrease in the magnitude of the climacteric peak was subsequently observed when the fruit were transferred and kept at 20°C. Conversely, the suppressed climacteric 'Angeleno' cultivar did not show any signs of climacteric behaviour activation after short-term storage, but there was a progressive increase in the magnitude of the ethylene peak when fruit were stored at 0°C for longer periods (Figure 1A).

Unlike with ethylene production, the cold stress did not induce changes in the time required to reach the climacteric peak in 'Larry Ann' plums either treated or not treated with 1-MCP (Figure 1B). As expected, 'Angeleno' plums needed more than twice the number of days to reach their maximal ethylene production.



**Figure 1.** Changes in the value of the ethylene climacteric peak (A) and in the number of days required to reach it (B) for different plum cultivars. Analyses were carried out after different periods of storage at 0°C, with fruit being kept at 20°C. (○) Untreated climacteric cultivar ('Larry Ann'); (●) climacteric cultivar treated with 400 nL L<sup>-1</sup> of 1-MCP; (▲) suppressed climacteric cultivar ('Angeleno'). Each point represents the mean of four replicates of six fruit each. Bar = LSD (p=0.05).



**Figure 2.** Changes in the value of the ethylene climacteric peak (A) and in the number of days required to reach it (B) in the suppressed-climacteric cultivar ('Angeleno') treated with either 1-MCP or exogenous ethylene. Analyses were carried out after different periods of storage at 0°C keeping fruit at 20°C. (○): untreated fruit; (●): fruit treated with 1-MCP; (▲): fruit treated with exogenous ethylene. Each point represents the mean of four replicates of six fruit each. Bar = LSD (p=0.05).

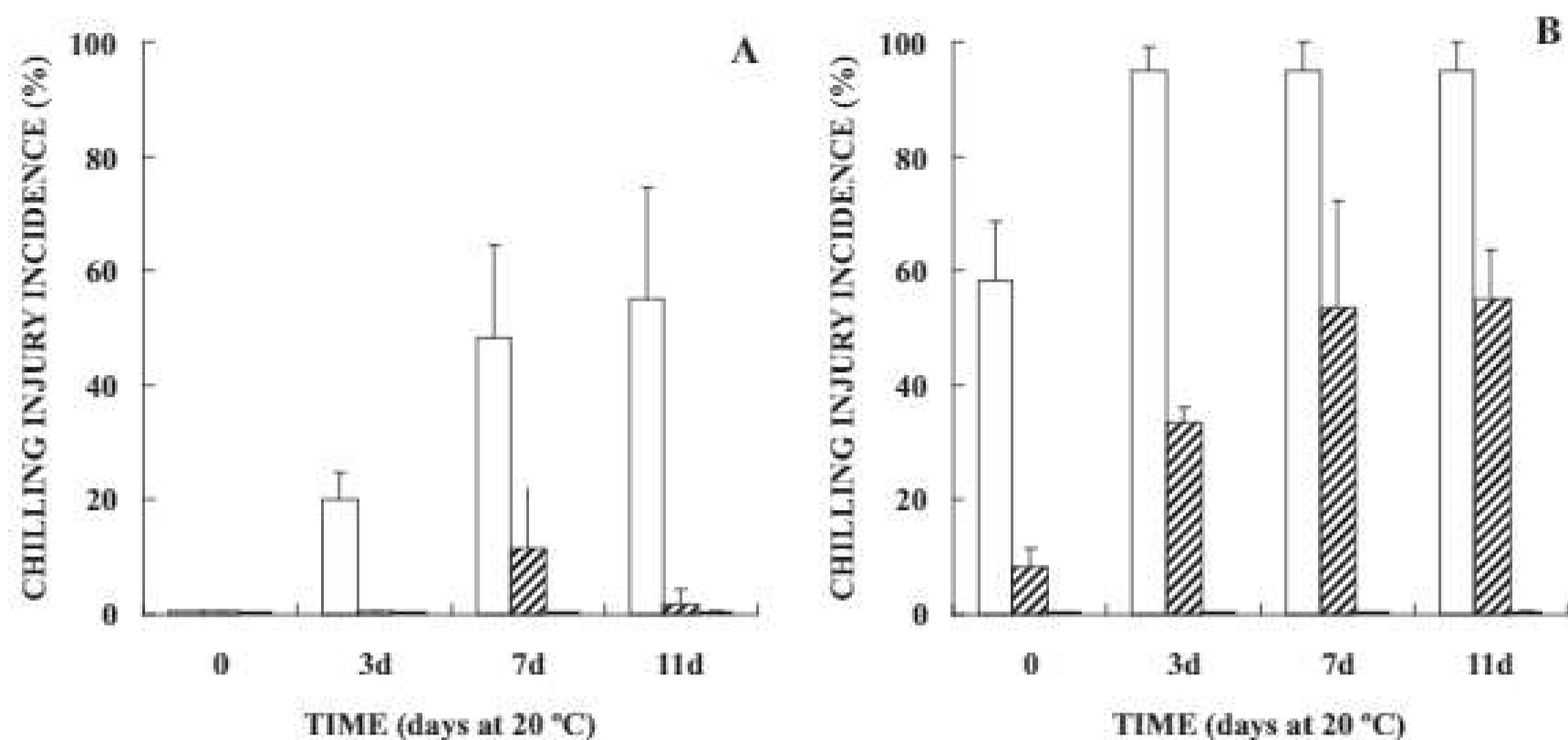
## Changes in ethylene production in the suppressed climacteric cultivar treated with exogenous ethylene and 1-mcp

Treatment with exogenous ethylene clearly modified the pattern of ethylene production of 'Angeleno' plums. In fruit treated with 1000 L L<sup>-1</sup> of ethylene, the time required to reach maximal ethylene production at 20°C was shortened regardless of storage duration (Figure 2B). A significant increase in the amplitude of the peak was observed after 7 days of cold storage (Figure 2A). Conversely, 1-MCP treatment significantly reduced the amplitude of the ethylene peak but had no effect on the number of days required to reach this peak.

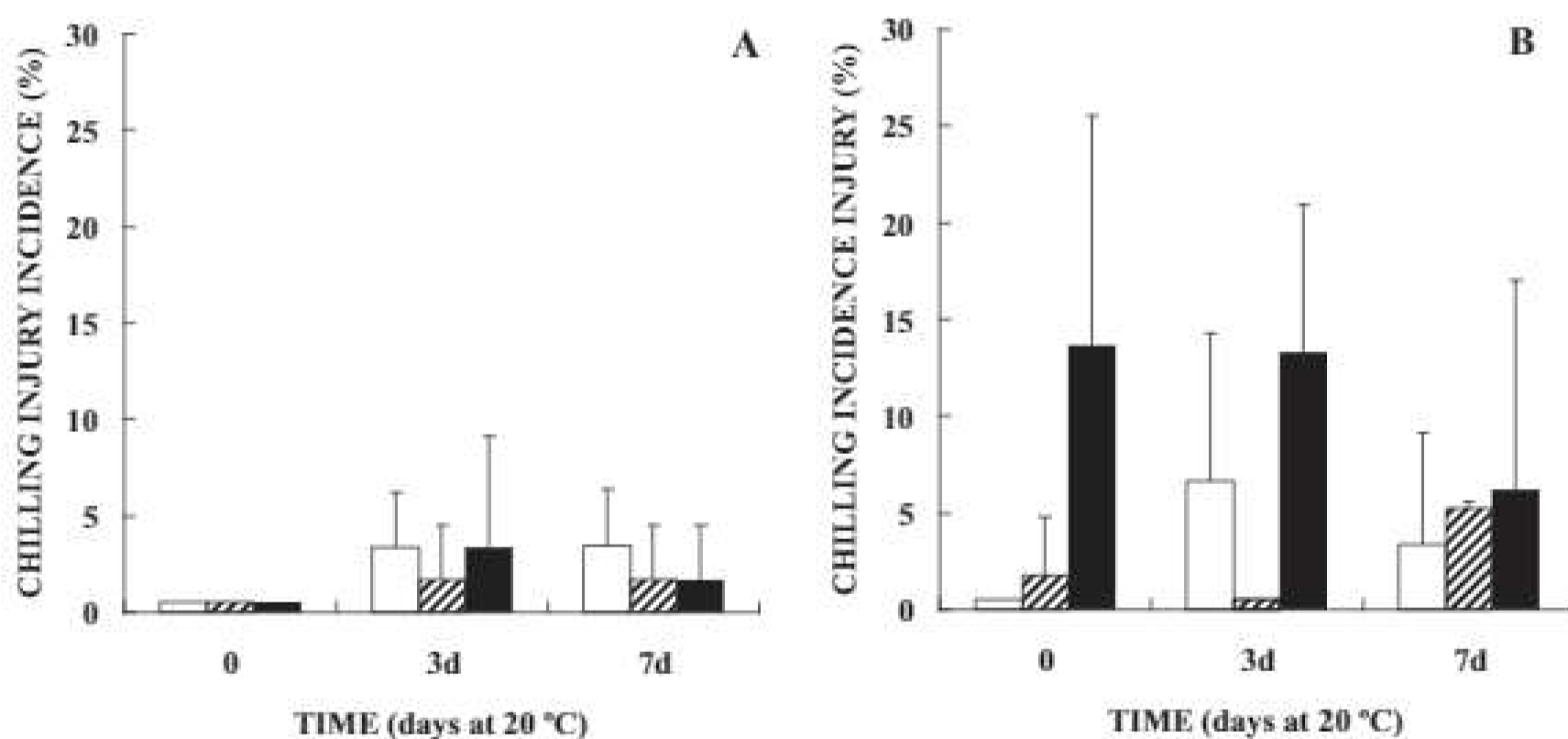
## Changes in the incidence of chilling injury

The first observed symptom of chilling injury was flesh translucency. This symptom first appeared in the climacteric cultivar during shelf life after 30 days of storage at 0°C (result not shown). It then progressively increased with storage duration (Figure 3). 1-MCP treatment significantly reduced the incidence of the disorder in the climacteric cultivar. This treatment respectively reduced the percentage of fruit affected by 7%, 20%, 32% and 62% after 3 days of shelf life, and by 3%, 37%, 28% and 42% after 7 days of shelf life when they were stored for 30, 40, 50 and 60 days at 0°C. Fruit of the suppressed climacteric cultivar remained healthy until the end of the experimental period and did not present any translucency symptoms, even after 60 days of storage plus 11 days of shelf life (Figure 3).

In a second trial, carried out in order to complete these first results, the suppressed climacteric cultivar was stored for a longer period (up to 70 days) and samples were treated with exogenous ethylene. Control and 1-MCP treated fruit exhibited a very low incidence of disorders during the shelf life period (Figure 4). In contrast, a slight increase in the incidence of disorders was observed in the fruit treated with ethylene, especially when they were stored for 70 days and particularly at the beginning of the shelf life period.



**Figure 3.** Percentage of fruit affected by chilling injury (flesh translucency) in different plum cultivars. Fruit were kept in cold storage for 40 days (A) and 60 days (B) at 0°C and then removed and kept at 20°C to assess the incidence of chilling after 0, 3, 7 and 11 days of shelf life at 20°C. White squares: untreated climacteric cultivar; dashed squares: climacteric cultivar treated with 400 nL L<sup>-1</sup> of 1-MCP; black squares: untreated suppressed climacteric cultivar. Values represent the means of 60 fruit ±SD.

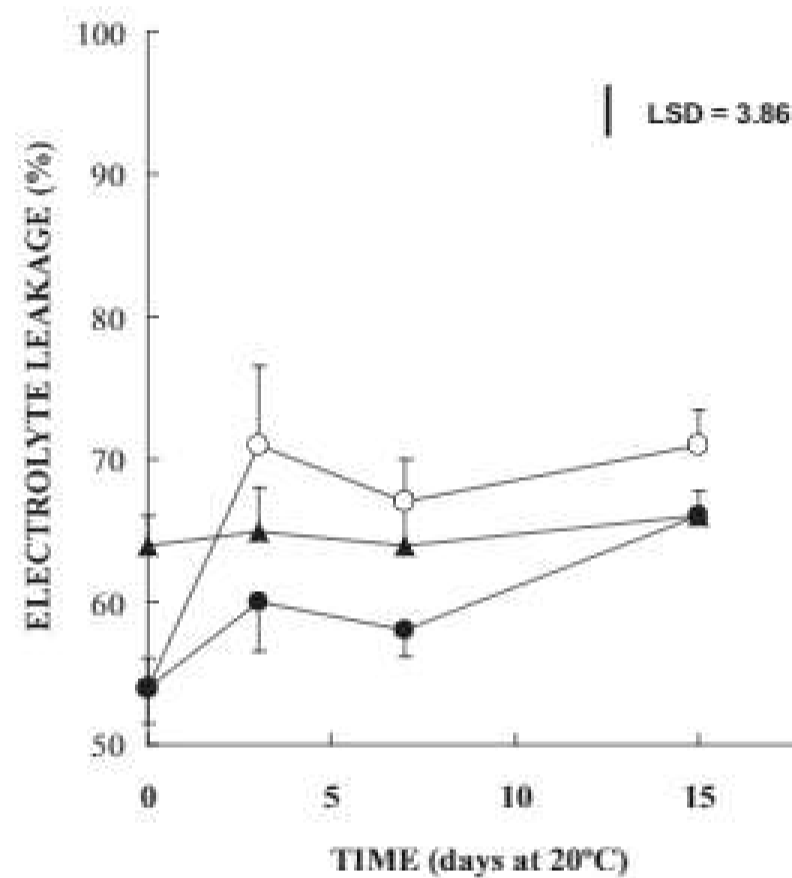


**Figure 4.** Percentage of fruit affected by chilling injury (flesh translucency) in the suppressed-climacteric cultivar treated with either 1-MCP or exogenous ethylene. Fruit were kept in cold storage for 50 days (A) and 70 days (B) at 0°C and then transferred and kept at 20°C to assess the incidence of chilling after 0, 3, and 7 days of shelf life. White squares: untreated fruit; dashed squares: fruit treated with 400 nL L<sup>-1</sup> of 1-MCP; black squares: fruit treated with exogenous ethylene. Values represent the means of 60 fruit ±SD.



## Changes in membrane permeability

Membrane permeability changes during short-term storage were assessed by determining the intensity of ion (electrolyte) leakage (EL) for the different plum cultivars. In general, and as expected, there was a positive relationship between changes in EL (Figure 5) and the incidence of chilling injury. As for ethylene production, EL values sharply increased in the short-term for climacteric plums, peaked after 3 d, and then finally stabilized at a higher value than for the other cultivars. 1-MCP treatment clearly reduced the loss of membrane permeability in the climacteric cultivar.



**Figure 5.** Changes in membrane permeability (electrolyte leakage values) for different plum cultivars. Analyses were carried out after different periods of storage at 0°C. (○) Untreated climacteric cultivar; (●) climacteric cultivar treated with 400 nL L<sup>-1</sup> of 1-MCP; (▲) suppressed climacteric cultivar. Values represent the means of 6 fruit +/- s.d. Bar = LSD (p=0.05).

---

## DISCUSSION

---

Fruit are generally classified as climacteric or non climacteric according to their ripening behaviour and whether or not they exhibit a peak in respiration and ethylene production (Mc Murchie et al., 1972). Although plums are among the climacteric fruit, Abdi et al. (1997) identified a number of plum cultivars, called suppressed-climacteric cultivars that produce only small amounts of ethylene and only do this during the latter phase of the ripening process. It is maybe because of this great physiological complexity that very little is known about chilling injury (CI) in plums. Authors generally agree with the model proposed by Lyons (1973), in which CI is primarily related to modifications in membrane permeability associated with a membrane-lipid

transition from a flexible liquid-crystalline to a solid-gel structure. This first event would lead to a cascade of secondary events, resulting in a loss of regulatory control and metabolism imbalance, cell autolysis, and finally the development of a variety of chilling symptoms (Wang, 1989).

We must ask ourselves whether this general scheme is valid for our model, and how ethylene is specifically involved in the incidence of CI in plums. To find answers to these questions, plums of a climacteric cultivar (whether treated with 1-MCP or not) and of a suppressed-climacteric cultivar were stored at 0°C. After removal from storage, the climacteric cultivar showed more symptoms of chilling injury than the suppressed climacteric cultivar. Furthermore, 1-MCP treatment clearly reduced the incidence of chilling in the climacteric cultivar. In our work, this greater sensitivity to chilling injury in the climacteric cultivar was related to a short-term activation of its climacteric behaviour under cold conditions and more precisely to a greater capacity to produce ethylene after removal from storage. Neither climacteric fruit treated with 1-MCP nor suppressed-climacteric fruit showed this transitory activation of the ethylene synthesizing competency and they only exhibited a very low incidence of disorder. These preliminary results provide a first indication that chilling injury in plum is related to the climacteric behaviour of the cultivar and more precisely to its capacity to produce ethylene.

Now the question that remains relates to the nature of the biochemical process involved in this response. This is not the first time that such a response has been found in fruit. In 'Granny Smith' apples, for example, several authors (Jobling et al., 1991; Larrigaudière and Vendrell, 1993) have shown that cold temperature may promote ethylene biosynthesis. In other apple cultivars, such as 'Royal Gala' and 'Starking Delicious', different types of behaviour were observed, but in all cases ethylene production clearly increased following cold stress (Larrigaudière et al., 1997). This cold-induced activation has also been described in 'Passe Crassane' pears (Lelièvre et al., 1997). Cold storage promotes the accumulation of ACC Synthase and ACC Oxidase mRNA which triggered the ethylene burst observed after removal from storage. Such a transcript accumulation was apparently possible in our climacteric plum cultivar, but others works are needed to confirm this hypothesis.

In another assay, aimed at confirming the hypothesis that chilling injury in plums is related to climacteric behaviour, the suppressed climacteric cultivar was treated with 1-MCP and exogenous ethylene. In comparison with the climacteric cultivar, the suppressed-climacteric cultivar produced lower levels of ethylene during the shelf life

period. 1-MCP clearly reduced the size of the ethylene peak, while the treatment involving exogenous ethylene activated the climacteric behaviour of the fruit, and especially after 7 days and up to 30 days of cold storage. However, despite these differences in ethylene production, only slight effects on chilling injury were found. In general, the fruit evidenced few signs of disorder, except when they were treated with ethylene and kept in storage at 0°C for 70 days. Although these results confirm our hypothesis, the low incidence of disorders in the suppressed-climacteric cultivar needs to be carefully interpreted. Due to its genetic characteristics, the suppressed-climacteric cultivar was expected to be less sensitive to the factors that generally activate the climacteric crisis in the other cultivars. This lack of sensitivity is probably the result of it having only a limited number of ethylene receptors (Sisler and Serek, 1997), though it may also be due to a specific inhibition of the ethylene metabolic pathway. Other works are needed to better understand the biochemical basis of this specific behaviour. They would help to improve the characterization of phenotypic differences between the different plum cultivars.

Collectively, the results presented here show that CI injury in plums is related to their climacteric behaviour and especially to their capability to respond to cold stress, which increases ethylene production after removal from storage. Using 1-MCP as an inhibitor of ethylene production effectively reduced the incidence of CI disorders and also appeared to be a promising tool for controlling this kind of disorder in climacteric plums.

---

## ACKNOWLEDGEMENTS

---

This research was supported by INTA, Alto Valle, Argentina. The authors gratefully acknowledge the Rohm and Haas Company for providing Smartfresh™ product.

---

## REFERENCES

---

- Abdi, N., Holford, P., Mc Glasson, W.B., Mizrahi, Y., 1997. Ripening behaviour and responses to propylene in four cultivars of Japanese type plums. *Postharvest Biol. Technol.* 12, 21-34.
- Candan, A.P., Graell, J., Crisosto, C., Larrigaudière, C., 2006. Improvement of storability and shelf life of 'Blackamber' plums treated with 1-methylcyclopropene. *Food Sci. Technol. Int.* 12, 437-444.
- Crisosto, C.H., Mitchel F.G., Ju, Z., 1999. Susceptibility to chilling injury of peach, nectarine, and plum cultivars grown in California. *HortScience* 34, 1116-1118.
- Dodd, M.C., 1984. Internal breakdown in plums. *Deciduous Fruit Grower.* 34: 355-356.
- Dong, L., Zhou, H.W., Sonogo, L., Lers, A., Lurie, S., 2001. Ripening of 'Red Rosa' plums: effects of ethylene and 1-methylcyclopropene. *Aust. J. Plant Physiol.* 28, 1039-1045.
- Dong, L., Lurie, S., Zhou, H.W., 2002. Effect of 1-methylcyclopropene on ripening of 'Canino' apricots and 'Royal Zee' plums. *Postharvest Biol. Technol.* 24, 135-145.
- Jobling, J., Mc Glasson, W.B., Dilley, D.R., 1991. Induction of ethylene synthesizing competency in Granny Smith apples by exposure to low temperature in air. *Postharvest Biol. Technol.* 1, 111-118.
- Larrigaudière, C., Vendrell, M., 1993. Cold-induced activation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid metabolism in rewarmed 'Granny Smith' apples: consequences on ripening. *Scientia Hortic.* 55, 263-272.
- Larrigaudière, C., Graell, J., Salas, J., Vendrell, M., 1997. Cultivar differences in the influence of a short period of cold storage on ethylene biosynthesis in apples. *Postharvest Biol. Technol.* 10, 21-27.
- Lelièvre, J.M., Latché, A., Jones, B., Bouzayen, M., Pech, J.C., 1997. Ethylene and fruit ripening. *Physiol. Plantarum* 101, 727-739.
- Lyons, J.M., 1973. Chilling injury in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 24, 445-466.
- Martínez-Romero D., Dupille, E., Guillén, F., Valverde, J.M., Serrano, M., Valero, D.J., 2003. 1-Methylcyclopropene increases storability and shelf life in climacteric and nonclimacteric plums. *Agric. Food Chem.* 51, 4680-4686.

- Mc Murchie, E.J., Mc Glasson, W.B., Eaks, I.L., 1972.** *Treatment of fruit with propylene gives information about the biogenesis of ethylene. Nature, 237, 235-236.*
- Menniti, A.M., Gregori, R, Donati, I., 2004.** *1-Methylcyclopropene retards postharvest softening of plums. Postharvest Biol. Technol. 31, 269-275.*
- Sisler, E.C. and M. Serek., 1997.** *Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: Recent developments. Physiol. Plant. 100, 577-582.*
- Taylor, M.A., Jacobs, G., Rabe, E., Dodd, M.C., 1993.** *Physiological factors associated with over-ripeness, internal breakdown and gel breakdown in plums stored at low temperature. J. Hort. Sci. 68, 825-830.*
- Taylor, M.A., 1996.** *Internal disorders in South African plums. Deciduous Fruit Grower 46, 328-355.*
- Wang, C.Y., 1989.** *Chilling injury of fruit and vegetables. Food Review Int. 5, 209-236.*



## CAPÍTULO 4

### PHYSIOLOGICAL RESPONSE OF 'LARRY ANN' PLUMS TO COLD STORAGE AND 1-MCP TREATMENT

Christian Larrigaudière<sup>1</sup>  
Ana Paula Candan<sup>2</sup>  
Dolors Ubach<sup>1</sup>  
Jordi Graell<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Postharvest, UdL-IRTA Center, CeRTA, Rovira Roure 191, 25198 Lleida, Spain.

<sup>2</sup> Postharvest, INTA Alto Valle, CC 782 (8338), General Roca, Río Negro, Argentine.

**Publicado en:**

Postharvest Biology and Technology, 2009, 51 (1): 56-61





---

## ABSTRACT

---

The aim of this work was to study the specific effects that low temperature and 1-MCP treatment have on ethylene metabolism and oxidative behaviour in plums (*Prunus x salicina* cv. 'Larry Ann'). Control fruit were stored at 20°C or 0°C and the 1-MCP (625 nL L<sup>-1</sup>) treated fruit at 0°C. Changes in the kinetics of ethylene production upon removal were related to changes in ACC metabolism (ACC and MACC levels), oxidative behaviour (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content) and enzymatic antioxidant potential (SOD, CAT and POX enzymes) during cold storage. Low temperature stress inhibited the synthesis of MACC, which appeared to be the basic process that regulated ACC and ethylene production at ambient temperature. Although 1-MCP treatment inhibited ethylene production and ACC accumulation in cold, it did not inhibit the accumulation of MACC. Neither cold nor 1-MCP treatment induced an oxidative stress. Nevertheless, the 1-MCP treatment significantly impaired the increase in POX activity observed during cold storage. Collectively these results showed the underlying role that ACC metabolism plays in the ripening behaviour of cold-stored plums confirming previous results. These results also indicate that MACC and malonyl transferase activity are the key regulatory factors that control ripening and likely some ethylene-related disorders such as chilling injury in cold-stored plums.

*Keywords: plums, cold storage, malonylation, ethylene biosynthesis, antioxidant enzymes*

---

## INTRODUCTION

---

‘Larry Ann’ plums present a typical climacteric ripening behaviour and their quality parameters change sharply in relation to harvest date. As in other climacteric species, ripening triggers softening, an increase in soluble solids content (SSC) and a decrease in titratable acidity (TA). To limit these problems plums are stored in cold and controlled atmosphere storage. However, the benefits may be limited by the development of physiological disorders such as internal breakdown and gel breakdown, attributed to chilling injury (Taylor et al., 1993; Crisosto et al., 1999; Menniti et al., 2006).

Very little is known with regards to the physiological processes taking place in plum during cold acclimation. Previously we showed that chilling injury was a consequence of exacerbated climacteric behaviour (Candan et al., 2008). This behaviour is a reflection of the role that ethylene plays in plum quality.

Antioxidants are important components in plum. The contribution of phenolic compounds to antioxidant activity was much greater than that of vitamin C and carotenoids (Gil et al., 2002). However, for stress regulation, ascorbic acid, hydrogen peroxide and the enzymes involved in their metabolism are of prime importance (Foyer et al., 1994).  $H_2O_2$  may be toxic for the cells and should not be allowed to accumulate. The enzymes that convert  $H_2O_2$  to water are catalase (CAT) and peroxidase (POX). In response to stress, plants normally increase the activity of these enzymes (Schöner and Krause, 1990; Jahnke et al., 1991) and a decrease in ascorbate or in enzymatic potential is often associated with a reduction in the capacity to prevent damage (Noctor and Foyer, 1998).

1-Methylcyclopropene (1-MCP) is a strong blocker of ethylene receptors and is being used as a tool to further investigate the role of ethylene in ripening and senescence (Blankenship and Dole, 2003). In our case 1-MCP was used to understand the physiological basis of the ethylene-related process occurring in plum fruit during cold acclimation. 1-MCP can reduce ethylene production and maintain firmness and acidity in climacteric plums (Dong et al., 2002; Argenta et al., 2003; Martinez-Romero et al., 2003; Menniti et al., 2004; Candan et al., 2006). Moreover, recent research has demonstrated that the reduction of ethylene production in 1-MCP treated plums is related to a decrease in 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) content and to the corresponding inhibition of ACC synthase (ACS) and ACC oxidase (ACO)

enzymes (Khan and Singh, 2007). 1-MCP treatment also maintains firmness by reducing fruit softening enzyme activities of 'Red Rosa' and 'Tegan Blue' plums stored at 20°C (Dong et al., 2001; Khan and Singh, 2007).

Chilling injury in plums is related to the climacteric behaviour of the cultivar and to the quick induction on a short-term basis of higher capability to produce ethylene in cold (Candan et al., 2008). As a consequence, 1-MCP effectively reduced chilling injury symptoms in plums. Additionally, it has been proposed that the beneficial effects of 1-MCP treatment are not exclusively due to its action on ethylene but also through a direct effect on the antioxidant potential (Larrigaudière et al., 2004; Vilaplana et al., 2006). At present, no information is available about this last effect in plums. This work aims to study the effect of 1-MCP on antioxidant potential in plums and to define the specific roles that ethylene and antioxidants play during storage of plums.

---

## MATERIAL AND METHODS

---

### Plant material and sampling

Japanese type plums (*Prunus salicina*) 'Larry Ann' were harvested according to commercial standards for firmness on the 14th august 2006 at a preclimacteric stage from a commercial orchard in Lleida, Spain.

For the treatments, fruit was divided into three samples of 120 fruit each. One was stored at 20°C without 1-MCP treatment. The two others were stored at 0°C with or without 1-MCP treatment. After 1, 3, 7 and 14 d storage at 20°C or 0°C, a 30 fruit sample was removed from the storage for biochemical analysis. At each time, the climacteric behaviour of the fruit was assessed determining the kinetic of ethylene production at 20°C on 6 fruit. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ACC, MACC content and activity of antioxidant enzymes were assessed immediately after removal on 6 different fruit except H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> analysis that was carried out on 4 fruit.

### 1-MCP treatment

1-MCP was applied five hours after harvest, using the following procedure. For each sample, the boxes were covered with a 1 m<sup>3</sup> plastic bag. The treatment was carried out using the device provided by the Smartfresh Company that consisted of a little ventilator and a small plastic flask containing the reaction mixture. To obtain 625 nL L<sup>-1</sup>

1-MCP into the plastic bag, the reaction mixture contained: 15 mL of Smartfresh™ activator solution, 2 tablets of Smartfresh™ activator and 2 tablets of Smartfresh™ 1-MCP. Treatment was carried out in cold (0°C), overnight (18 h) and in the same chamber used for storage. Before the establishment of storage conditions, the plastic bag was opened and the chamber thoroughly aerated.

## Determination of ethylene production

Ethylene production was determined at 20 °C using a flow-trough system. The ethylene production rate was determined on three replicates of two plums each. Fruit were placed in 1.5 L flasks and continuously ventilated with humidified air at a flow rate of approximately 1.5 L h<sup>-1</sup>. Gas samples were taken of the effluent air from the flasks, using a 1 mL syringe and injected into a gas chromatograph (Hewlett-Packard 5890 Series II, Barcelona, Spain) equipped with a FID detector and an alumina column (1.5 m × 3 mm). Gas analyses were conducted isothermally at 100°C with the injector and detector kept at 120°C and 180°C, respectively. The flow rates used for the N<sub>2</sub> carrier gas, air and H<sub>2</sub> were 45, 400 and 45 mL min<sup>-1</sup>, respectively. Ethylene production was determined under atmospheric pressure at 20°C and expressed in µL kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

## Determination of ACC and MACC levels

For the determination of ACC, longitudinal slice samples (3 g) of the pulp were used for extraction with 80 % ethanol. The ACC content was assayed according to the method of Lizada and Yang (1979) and expressed as nmol ACC g<sup>-1</sup> fresh weight (F.W). MACC was measured by analyzing the ACC content of a hydrolyzed extract as described by Hoffman et al. (1982). Data were expressed as nmol MACC g<sup>-1</sup> F.W. In both cases, values represent the means of six fruit.

## Determination of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

To determine H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> levels, 15 g of fresh pulp tissue was homogenized in 20 mL 5 % trichloroacetic acid, filtered through two layers of Miracloth and centrifuged at 20,000 g for 15 min at 4 °C. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content was determined using the OXIS International Inc (Portland, OR USA) Bioxytech H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-560 colorimetric assay following manufacturer's instructions. The assay is based on the oxidation of ferrous ions (Fe<sup>2+</sup>) to ferric ions (Fe<sup>3+</sup>) by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> under acidic conditions. Ferric ions bind with the indicator dye xylenol

orange to form a stable coloured complex that is measured at 560 nm. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content was expressed as mol kg<sup>-1</sup> F.W, with each value being the mean of four fruit determinations.

## Extraction of the enzymes involved in antioxidant metabolism

Pulp tissue (20 g fresh weight) was ground in liquid nitrogen with a pestle and mortar and homogenized in 60 mL 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.8), 2 mM DTT, 5 % (w/v) polyvinylpolypyrrolidone, 0.1 mM EDTA and 1.25 mM polyethylene glycol (Bailly et al., 1996). The homogenate was filtered through two layers of Miracloth (Textil Planas Oliveras s.a, Manresa, Spain) and centrifuged at 20,000 g for 15 min at 4 °C. A 2.5 mL aliquot was then loaded onto a Sephadex G-25 column (PD 10, Pharmacia, Madrid, Spain) equilibrated with 10 mL 0.1 M phosphate buffer (pH 7.8). The enzymes were eluted with 3.5 mL of the same buffer. The resulting supernatant was used as an enzyme extract to determine superoxide dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) and catalase (CAT, EC 1.11.1.6) activity.

Total peroxidase extraction (POX, EC 1.11.1.7) was carried out using the Lurie et al. (1997) protocol. Samples of 10 g of pulp tissue (fresh weight) were homogenized in 10 mL phosphate buffer (0.1 M, pH 6) with 0.5 mM cysteine. The extract was filtered through two layers of Miracloth and centrifuged at 30,000 g for 15 min at 4 °C. A 2.5 mL sample of the supernatant was then loaded onto a Sephadex G-25 column (PD 10, Pharmacia) that had previously been equilibrated with 10 mL phosphate buffer (pH 6). The enzyme was eluted with 3.5 mL of the same buffer.

## Analysis of the enzymes involved in the antioxidant metabolism

SOD activity was assayed by measuring its ability to inhibit the photochemical reduction of nitroblue tetrazolium (NBT) using the method described by Giannopolitis and Ries (1977). One unit of SOD was considered to be the amount of enzyme required to inhibit NBT reduction by 50 %. Catalase activity was measured by the Clairbone (1985) method, following the disappearance of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at 240 nm. POX activity was measured by the method described by Hanotel et al. (1995) following changes in the

colour of the extract at 470 nm after adding 10 mM guaiacol and 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Except for SOD (see above), enzyme activity was expressed in units of activity (U.a) mg<sup>-1</sup> protein (prot), with one U.a representing the quantity of enzyme responsible for a change in absorbance of 1 absorbance unit min<sup>-1</sup>. Protein measurements were performed according to Bradford (1976). Data on enzyme activity represent the means of 6 individual fruit measurements.

## Data processing and statistical analysis

Data were analyzed for significant differences by applying variance analysis (ANOVA) using the SAS statistical package (SAS, Institute Inc., Cary, NC). Data presented in the figures were subjected to mean separation by the LSD (Least Significant Difference) test, ( $p = 0.05$ ).

---

## RESULTS

---

### Effects of cold stress and 1-MCP treatment on the induction of climacteric and ethylene production at 20°C

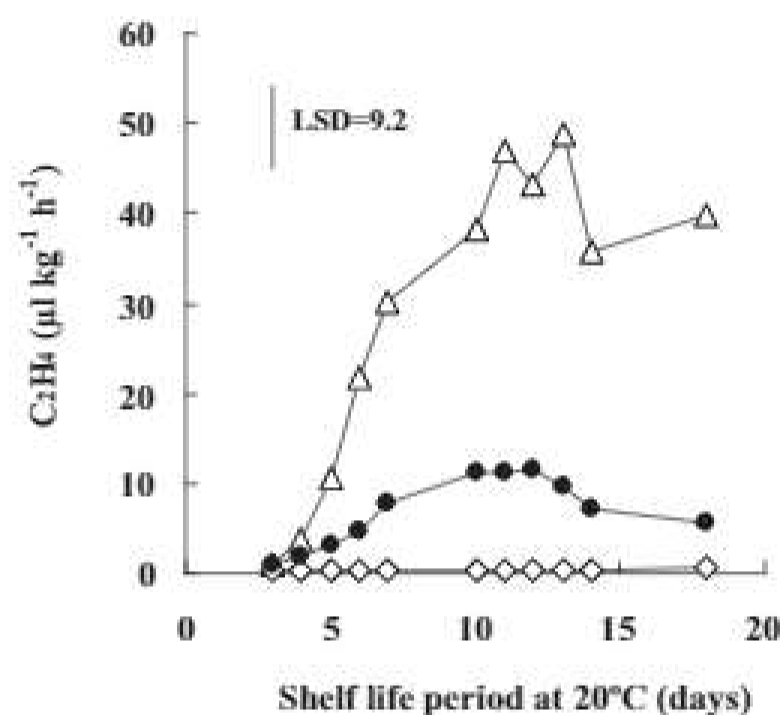
Fruit that were removed from storage (at 20°C or 0°C) after 1, 3 or 7 d, produced very low levels of ethylene during the subsequent shelf life period (20 °C) regardless of the storage treatment (results not shown). In contrast, ethylene production during shelf life following 14 d of storage was significantly different between treatments. In control fruit stored at 20°C, the ethylene concentration increased during the first 11 d to a value of 11.6 L kg h<sup>-1</sup> and then declined (Figure 1). Cold-stored fruit not treated with 1-MCP exhibited a sharp increase in ethylene production immediately after removal, the lag time to detect significant ethylene levels was shortened and a significantly higher maximum (48.4 L kg h<sup>-1</sup>) was reached after 13 d of shelf life. Cold-stored 1-MCP treated fruit did not show an increase in ethylene production and ethylene levels were close to 0 L kg h<sup>-1</sup> during the 18 d of shelf life.

### Effects of cold stress and 1-MCP treatment on ACC y MACC levels

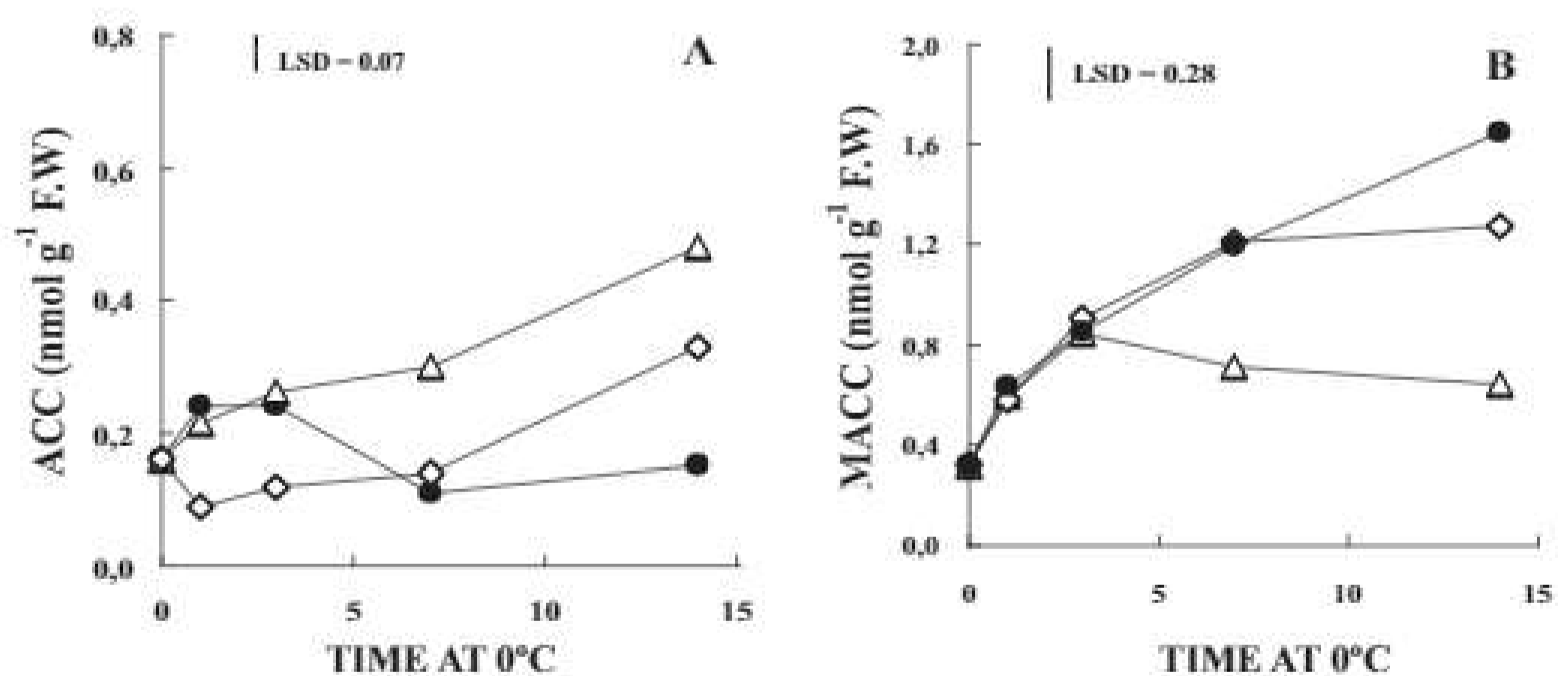
In control fruit stored at 20°C, ACC levels slightly decreased after 3 d of storage

(Figure 2A). In contrast a slight but constant increase was found when the fruit was stored at 0°C. 1-MCP treatment inhibited the accumulation of ACC during the first week at 0°C, but a significant increase was observed later.

Very significant differences in MACC levels were found between treatments (Figure 2B). Control fruit kept at 20°C exhibited a sharp accumulation of MACC during the experimental period from 0.22 nmol g<sup>-1</sup> FW at harvest to 1.65 nmol g<sup>-1</sup> FW at the end of storage. Fruit stored at 0°C exhibited a similar behaviour during the first 3 d of storage but MACC levels remained constant thereafter. The 1-MCP treated cold-stored fruit followed the same trend as the control fruit stored at 20°C for longer (7 d) before stabilizing.



**Figure 1.** Changes in ethylene production in 'Larry Ann' plums stored for 14 d at 20°C or 0°C. Time 0 represent the beginning of the shelf life period at 20°C. ● : Control fruit stored at 20°C, △ : Fruit stored at 0°C, ◇ : Fruit treated with 625 nL L<sup>-1</sup> 1-MCP and stored at 0°C. Values for ethylene production represent means of 3 replicates of 2 fruit each. Bar = LSD (p=0.05).

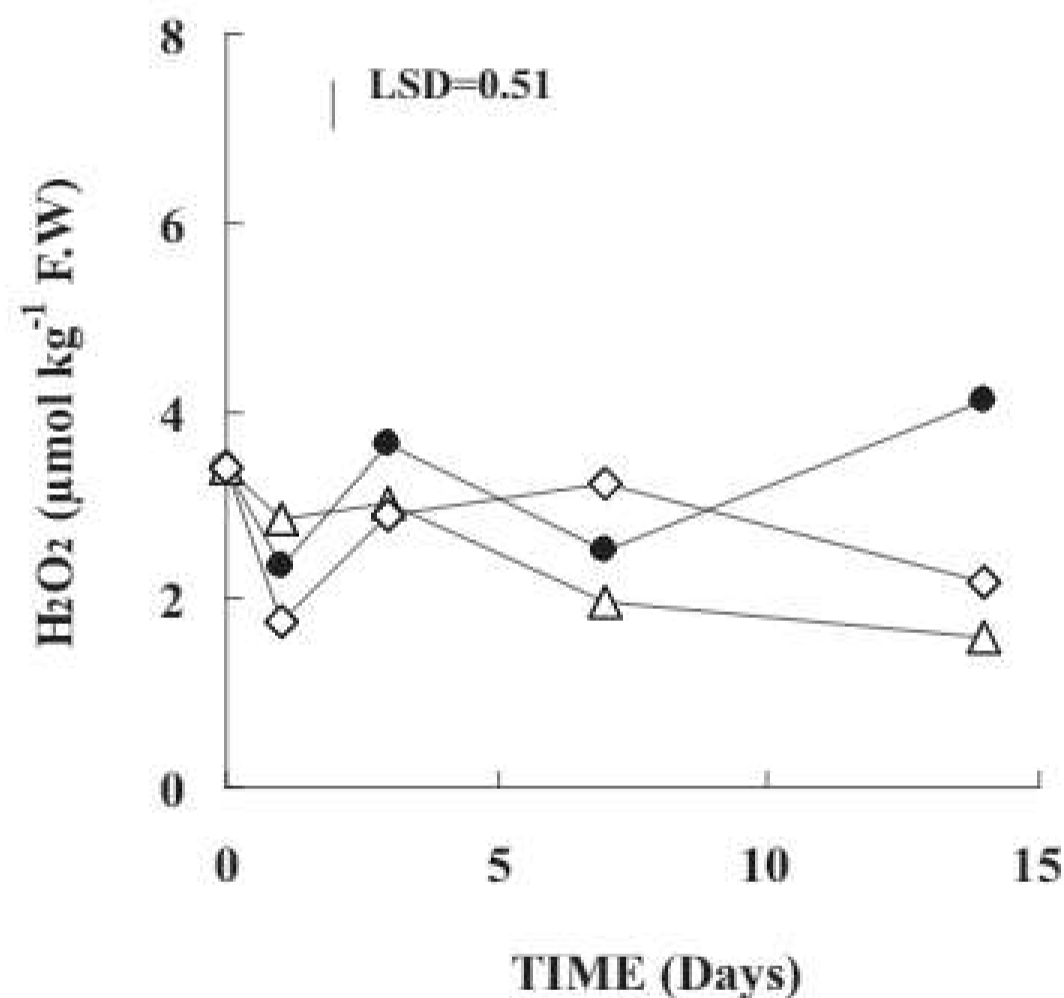


**Figure 2.** Changes in ACC (A) and MACC levels (B) in 'Larry Ann' plums stored at 20°C or 0°C. Time 0 represent the beginning of the storage period. ● : Control fruit stored at 20°C, △ : Fruit stored at 0°C, ◇ : Fruit treated with 625 nL L<sup>-1</sup> 1-MCP and stored at 0°C. Values represent means of 6 different fruit. Bar = LSD (p=0.05).

## Effects of cold stress and 1-MCP treatment on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> levels and antioxidant enzymes activity

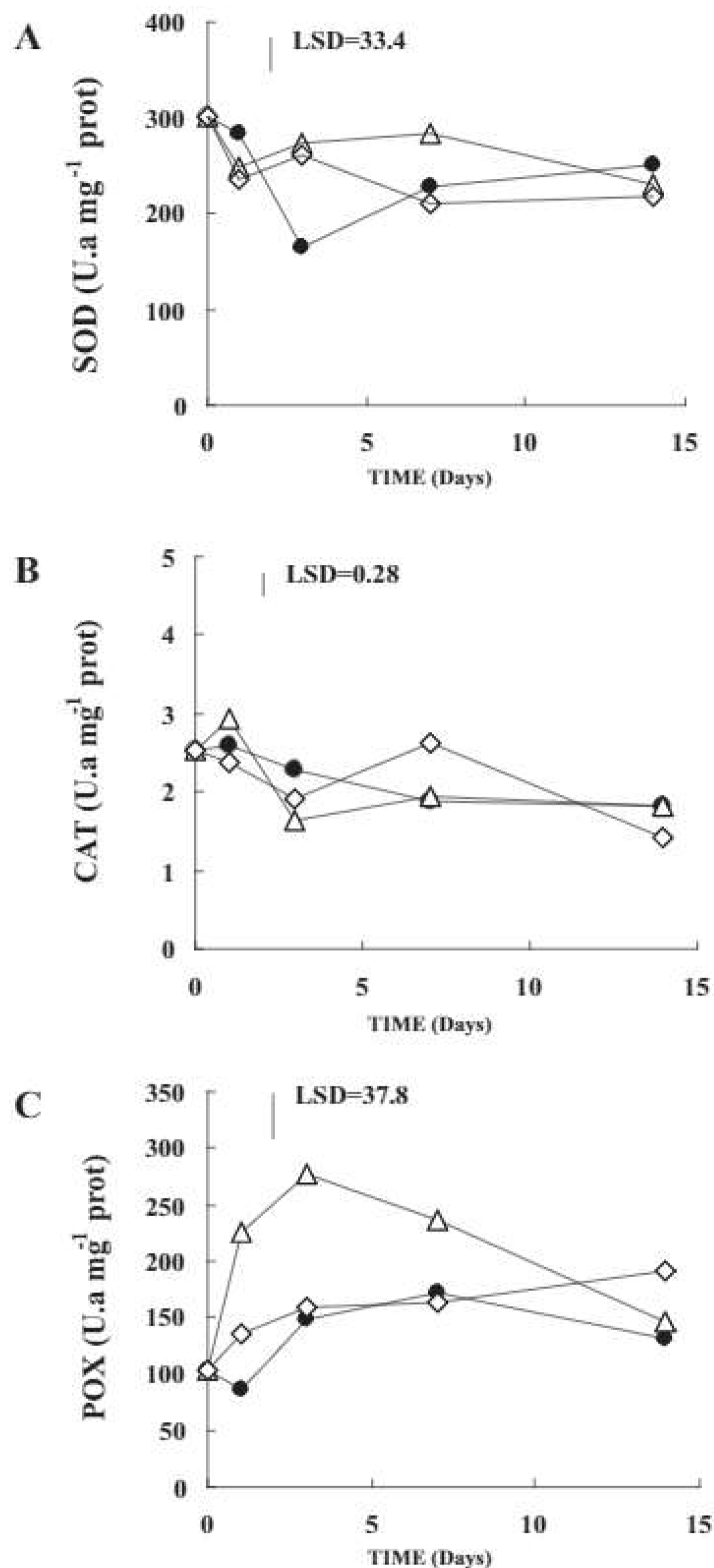
In general, no significant differences in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> levels were found between treatments (Figure 3) except for the control fruit which had significantly higher H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> levels after 2 weeks of storage at 20°C.

For all the treatments the activity of SOD and CAT enzyme slightly decreased during storage (Figures 4A and 4B) but the differences between treatments were not significant. In contrast, significant differences were found for POX enzyme activity (Figure 4C). For all treatments, POX activity increased during the first 3 d of storage. The highest increase was observed for the fruit stored at 0°C and not treated with 1-MCP with a two-fold increase after 3 d followed by a slow decrease. 1-MCP treatment completely eliminated this increase in activity, the 1-MCP treated fruit exhibiting a similar trend than the fruit always kept at 20°C.



**Figure 3.** Changes in the levels of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) in 'Larry Ann' plums stored at 20°C or 0°C. Time 0 represent the beginning of the storage period. ● : Control fruit stored at 20°C, Δ : Fruit stored at 0°C, ◇ : Fruit treated with 625 nL L<sup>-1</sup> 1-MCP and stored at 0°C. Values represent means of 4 different fruit. Bar = LSD (p=0.05).





**Figure 4.** Changes in the activity of antioxidant enzymes SOD (A), CAT (B) and POX (C) in 'Larry Ann' plums stored at 20°C or 0°C. Time 0 represent the beginning of the storage period. ● : Control fruit stored at 20°C, ▲ : Fruit stored at 0°C, ◇ : Fruit treated with 625 nL L<sup>-1</sup> 1-MCP and stored at 0°C. Values represent means of 6 different fruit. Bar = LSD (p=0.05).

### Effects of cold treatment on ACC metabolism

As previously observed in apples (Larrigaudière and Vendrell, 1993; Larrigaudière et al., 1997), the cold treatment clearly induced ethylene production in plums after removal. A four fold increase was found for the fruit stored for 14 d at 0°C compared to the fruit stored for 14 d at 20°C. This result is in agreement with previous research in which 'Larry Ann' plums only manifested an increased ethylene production after minimally 3 d of exposure to 0°C (Candan et al., 2008). They also showed that the time needed for ethylene production to be induced (3 d in our previous study, 14 d in this one) may change depending on the year, maturity at harvest, location, and environmental conditions.

In apples (Tian et al., 2002) and pears (Lelièvre et al., 1997), this cold-induced effect on ethylene production is the result of an accumulation of ACS and ACO mRNA. In plums such behaviour is also expected. Although we did not measure transcription levels directly, the higher levels of ACC and MACC are consistent with this idea. At 20°C, ACC levels remained low mainly because of high MACC levels. Such a result suggests that malonylation is the underlying mechanism that regulates ethylene production in 'Larry Ann' plums at 20°C. After 3d of storage in cold, the malonylation was clearly inhibited with only slight increases in ACC levels. The reason for such an inhibition in cold remains to be explained, but as for others enzymes, it is probably due to a direct effect of temperature on enzyme activity according to the Arrhenius model.

### 1-MCP regulated the stress response

Since 1-MCP inhibits ethylene perception by binding to the ethylene receptors to block the effects of endogenous and exogenous ethylene (Sisler et al. 1996), this compound can delay or even impair ripening in a wide range of fruit species. In apples, 1-MCP treatment significantly inhibited the activity of ACS and ACO enzymes both in skin and pulp tissue and as such decreased ethylene production (Vilaplana et al., 2006). In plums, most of the research describes the effects that 1-MCP treatment has on fruit quality (Dong et al., 2002; Martinez-Romero et al., 2003; Menniti et al., 2004; Candan et al., 2006) and only some of them describe the effects that this treatment has on ACC metabolism (Dong et al., 2001; Khan and Singh, 2007). However, nothing is published concerning the regulatory effect of 1-MCP on cold-induced ethylene production.

In 'Larry Ann', the 1-MCP treatment completely inhibited the cold-induced stress response observed in cold-stored fruit. Lower ACC levels were observed at the beginning of storage but these levels increased after 1 week of storage, indicating continued ACS activity in contrast to apples where ACS activity ceased (Vilaplana et al., 2006). This difference is likely the reflection of different adaptations in the regulatory mechanisms of the ethylene signalling pathway for different species (Schotsmans et al., 2009).

Considering the inhibitory effects of cold treatment on the formation of malonyl ACC, it was interesting that the combined treatment (cold + 1-MCP) did not induce lower levels of MACC but actually higher. When compared to the untreated cold-stored fruit, a two-fold increase was observed at the end of storage. Similar results were also observed in apples (Vilaplana et al., 2006). In both cases, this indicates that inversely to ethylene production, ACS is only partially inhibited by the 1-MCP treatment. These results also show that malonyl transferase is ethylene-independent and likely negatively linked to the ethylene signalling pathway regulated by 1-MCP. This specific ability of 1-MCP to allow the reduction of ACC levels by maintaining malonylation during cold stress is of interest, because it can determine the ethylene response of the fruit upon removal and its sensitivity to chilling injury (Candan et al., 2008).

## Oxidative behaviour of cold- and 1-MCP-treated plums

Environmental changes can induce an accumulation of AOS, and particularly  $H_2O_2$ , in plants (Foyer et al., 1997). In 'Conference' pear, cold storage was shown to induce a significant increase in  $H_2O_2$  during the first days of storage (Larrigaudière et al., 2001). Similar behaviour was observed in cucumbers (Kuo and Parkin, 1989), zucchini squash (Wang et al., 1992), and mandarin oranges (Sala, 1998).

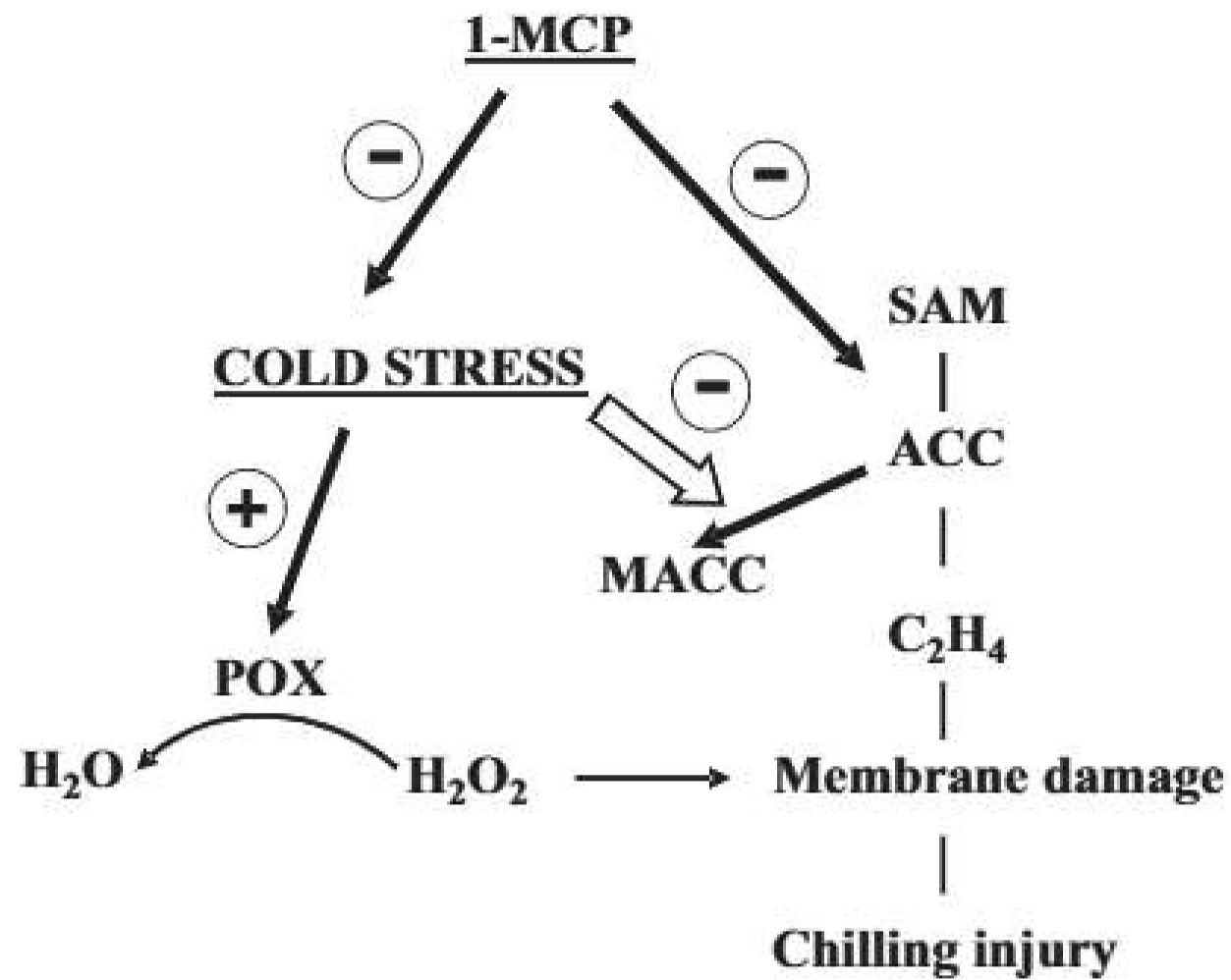
In response to cold treatment, 'Larry Ann' plums did not exhibit higher levels of  $H_2O_2$ , neither did the combined treatment (temperature + 1-MCP) promote  $H_2O_2$  accumulation. Although these results indicate that both treatments did not induce oxidative stress, this needs to be carefully interpreted. The lack of increase in  $H_2O_2$  levels may have been the result of increased enzymatic scavenging activity, which needs to be investigated in more depth.

## Changes in enzymatic antioxidant potential in response to cold stress and 1-MCP treatment

The effective destruction of active oxygen species (AOS) requires the action of several antioxidant enzymes acting concomitantly with non-enzymatic antioxidants. The superoxide radical ( $O_2^{\cdot-}$ ) is efficiently converted to  $H_2O_2$  by the action of superoxide dismutase (SOD). The main enzymes responsible for converting  $H_2O_2$  to water are catalase (CAT) and peroxidase (POX). In response to cold stress and 1-MCP treatment, 'Larry Ann' plums did not exhibit significant differences in SOD or CAT activity. In contrast, POX activity significantly increased in cold, an effect that was completely eliminated by 1-MCP treatment. This last result is in accordance to observations in avocado (HersHKovitz et al., 2005) and peach (Liu et al., 2005) and indicates that in plums, changes in POX enzyme activity are likely related to the ethylene signalling pathway regulated by 1-MCP. Further research is needed to clarify this regulatory mechanism. They will be of great interest to better understand the physiological changes occurring in plums during cold storage.

## General model of the mode of action of cold stress and 1-MCP treatment

The most important results described in this work are summarised in the model presented in figure 5. This model mainly considers conversion to MACC as the key regulatory element that control ripening and ethylene-related disorders in plums during cold storage. At 20°C, the ripening process is harmoniously regulated by malonyl transferase activity through control of the amount of ACC available for ethylene production. In cold storage, malonyl transferase is inhibited and the increase in ACC conversion to ethylene resulting from this inhibition, especially upon removal, might lead to membrane damage and senescence. According to our preliminary results cold temperature does not cause an oxidative stress and  $H_2O_2$  does not accumulate likely because of the higher POX activity observed during cold storage. Finally and according to this model, 1-MCP treatment acts at two levels: 1- It inhibits autocatalytic ethylene production mainly through an inhibition of ACS activity; 2- It impairs the negative effects of cold stress and especially the negative action that cold has on malonyl transferase activity. Both actions may explain the beneficial effects that this treatment has on plum ripening and senescence. Further research is needed to confirm this model. This will help us to better understand the physiological effects of 1-MCP treatment in plum.



**Figure 5.** Proposed model of the roles of cold stress and 1-MCP treatment on ACC metabolism and senescence in plums. - : Inhibition; + : Activation.  $\Rightarrow$  : Main effect

---

## ACKNOWLEDGEMENTS

---

This research was supported by INTA, Alto Valle, Argentina. The authors gratefully acknowledge the Rohm and Haas Company for providing the Smartfresh™ product. Special thanks to Wendy Schotsmans for reviewing.

---

## REFERENCES

---

- Argenta, L.C., Fan, X., Mattheis, J.P. 2003.** *Influence of 1-methylcyclopropene on ripening, storage life, and volatile production by D'Anjou cv. pear fruit. J. Agric. Food. Chem. 51: 3858-3864.*
- Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F., Come, D. 1996.** *Changes in malonaldehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated ageing. Physiol Plant. 97: 104-109.*
- Blankenship, S.M, Dole, J.M., 2003.** *1-Methylcyclopropene: a review. Postharvest Biol. Technol. 28: 1-25.*
- Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.*
- Candan, A.P., Graell J., Larrigaudière C., 2008.** *Roles of climacteric ethylene in the development of chilling injury in plums. Postharvest Biol. Technol. 47: 107-112.*
- Candan, A.P., Graell, J., Crisosto, C., Larrigaudière, C., 2006.** *Improvement of storability and shelf life of Blackamber plums treated with 1-methylcyclopropene. Food Sci. Technol. Int. 15, 435-444.*
- Clairbone, N., 1985.** *Catalase activity. Handbook of methods for oxygen radical research. Greenwald, R., Ed. CRC Press, Boca Raton, Fla, USA, 283-284.*
- Crisosto, C.H., Mitchel F.G., Ju, Z., 1999.** *Susceptibility to chilling injury of peach, nectarine, and plum cultivars grown in California. HortScience 34, 1116-1118.*
- Dong, L., Lurie, S. Zhou, H. W. 2002.,** *Effect of 1-methylcyclopropene on ripening of 'Canino' apricots and 'Royal Zee' plums. Postharvest Biol. Technol. 24, 135-145.*
- Dong, L., Zhou, H.W., Sonogo, L., Lers, A., Lurie S., 2001.** *Ripening of Red Rosa plums: effect of ethylene and 1-methylcyclopropene. Aust. J. Plant Physiol. 28, 1039-1045.*
- Foyer, C.H., Descourvières, P., Kunert, K.J., 1994.** *Protection against oxygen radicals: and important defence mechanism studied in transgenic plants. Plant Cell Environ. 17, 507-523.*
- Foyer, C.H., Lopez-Delgado, H., Dat, J., Scott, I., 1997.** *Hydrogen peroxide- and*

- glutathion associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. Physiol Plant. 100: 241–254.*
- Giannopolitis, C.N., Ries, S.K., 1977.** *Superoxide Dismutases. I, Occurrence in higher plants. Plant Physiol. 59, 309-314.*
- Gil, M.I., Tomas Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., Kader, A.A., 2002.** *Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach and plum cultivars from California. J. Agric. Food Chem. 50, 4976-4982.*
- Hanotel, L., Fleuriet, A., Boisseau, P., 1995.** *Biochemical changes involved in browning of gamma-irradiated cut witloof chicory. Postharvest Biol. Technol. 5, 199-210.*
- Hershkovitz, V., Saguy, S.I., Pesis, E., 2005.** *Postharvest application of 1-MCP to improve the quality of various avocado cultivars. Postharvest Biol. Technol. 37: 252–264.*
- Hoffman, N.E., Yang, S.F., McKeon, T., 1982.** *Identification of 1-(malonylamino) cyclopropane-1-carboxylic acid as a major conjugate of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, an ethylene precursor. Biochem. Biophys. Res. Comm. 104, 765-770.*
- Jahnke, L.S., Hull, M.R., Long S.P., 1991.** *Chilling stress and oxygen metabolizing enzyme in Zea mays and Zea diploperennis. Plant Cell Env. 14, 97-104.*
- Khan, A.S., Singh, Z., 2007.** *1-MCP regulates ethylene biosynthesis and fruit softening during ripening of 'Tegan Blue' plum. Postharvest Biol. Technol. 43, 298-306.*
- Kuo, S.J., Prkin, K.L., 1989.** *Chilling injury in cucumbers associated with lipid peroxidation as measured by ethane evolution, J. Food Sci. 54, 488-491.*
- Larrigaudière, C., Graell, J., Salas, J., Vendrell, M., 1997.** *Cultivar differences in the influence of a short period of cold storage on ethylene biosynthesis in apples. Postharvest Biol. Technol. 10, 21-27.*
- Larrigaudière, C., Lenthalic, I., Pintó, E., Vendrell, M., 2001.** *Short-term effects of air and controlled-atmosphere storage on antioxidant metabolism in Conference pears. J. Plant Physiol. 158, 1015-1022.*
- Larrigaudière, C., Vendrell, M., 1993.** *Cold-induced activation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid metabolism in rewarmed 'Granny Smith' apples: consequences on ripening. Sci. Hortic. 55, 263-272.*
- Larrigaudière, C., Vilaplana, R., Soria, Y., Recasens, I., 2004.** *Oxidative behaviour of*

*Blanquilla pears treated with 1-methylcyclopropene during cold storage. J. Sci. Food Agric.* 84, 1871-1877.

**Lelièvre, J.M., Tichit, L., Dao, P., Fillion, L., Nam, Y.W. Pech, J.C. Latché, A., 1997.** *Effects of chilling on expression of ethylene biosynthetic genes in Passe-Crassane pear (Pyrus communis L.) fruit. Plant Mol. Biol.* 33, 847-855.

**Liu, H.X., Jiang, W.B., Zhou, L.G., Wang, B.G., Luo, Y.B., 2005.** *The effects of 1-methylcyclopropene on peach fruit (Prunus persica L. cv. Jiubao) ripening and disease resistance. Int. Food Sci, Technol,* 40:1-17.

**Lizada, M.C.C., Yang, S.F., 1979.** *A simple and sensitive assay for 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. Anal. Biochem.* 100, 140-145.

**Lurie, S., Fallik, E., Handros, A., Shapira, R., 1997.** *The possible involvement of peroxidase in resistance to Botrytis cinerea in heat treated tomato fruit. Physiol. Mol. Biol. Plants* 50, 141-149.

**Martínez-Romero, D., Dupille, E., Guillén, F., Valverde, J.M., Serrano, M., Valero D. J., 2003.** *1- methylcyclopropene increases storability and shelf life in climacteric and non climacteric plums. J. Agric. Food Chem.* 51, 4680-4686.

**Menniti, A.M, Donati, I., Gregori, R., 2006.** *Responses of 1-MCP application in plums stored under air and controlled atmospheres. Postharvest Biol. Technol.* 39, 243-246.

**Menniti, A.M., Gregori, R., Donati, I., 2004.** *1-Methylcyclopropene retards postharvest softening of plums. Postharvest Biol. Technol.* 31, 269-275.

**Noctor, G., Foyer C., 1998.** *Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 249–279.

**Sala, J.M., 1998.** *Involvement of oxidative stress in chilling injury in cold-stored mandarin fruit. Postharvest Biol. Technol.,* 13, 355-261.

**Schöner, S., Krause H., 1990.** *Protective systems against active oxygen species in spinach: response to cold acclimation in excess light. Planta* 180, 383–389.

**Schotsmans, W.C., Prange, R.K., Binder, B.M., 2009.** *1-Methylcyclopropene (1-MCP): Mode of action and applications in postharvest horticulture. Hortic. Rev.* 35, (In Press).

**Sisler, E.C., Dupille, E., Serek, M., 1996.** *Effects of 1-methylcyclopropene and methylcyclopropene on ethylene binding and ethylene action on cut carnation. Plant Growth.* 18, 169–174.



**Taylor M. A., Jacobs G., Rabe E., Dodd M. C., 1993.** *Physiological factors associated with over-ripeness, internal breakdown and gel breakdown in plums stored at low temperature. J. of Hort. Sci.* 68 (5): 825-830.

**Tian, M.S., Prakash, S., Zhang, N., Ross, G.S., 2002.** *Chilling-induced ethylene biosynthesis in Braeburn apples. Plant Growth Regul.* 38, 249-257.

**Vilaplana, R., Valentines, M. C., Toivonen, P., Larrigaudière, C., 2006.** *Antioxidant potential and peroxidative state of 'Golden Smoothie' apples treated with 1-methylcyclopropene J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 131,104-109.

**Wang, C.Y., Kramer, G.F., Whitaker, B.D., Lusby, W.R., 1992.** *Temperature preconditioning increases tolerance to chilling injury and alters lipid composition in zucchini squash. J. Plant Physiol.,* 140, 229-235.



## CAPÍTULO 5

### SPECIFIC INTERESTS OF A POST-STORAGE 1-MCP TREATMENT IN PLUMS

Ana Paula Candan<sup>1</sup>  
Jordi Graell<sup>2</sup>  
Christian Larrigaudière<sup>2</sup>

<sup>1</sup> INTA Alto Valle, C.C. 782 (8332) General Roca, Río Negro, Argentina.

<sup>2</sup> UdL-IRTA Center, XaRTA, Rovira Roure 191, 25198 Lleida, España.

**Artículo enviado a:**  
Postharvest Biology and Technology



---

## ABSTRACT

---

With the aim to increase the commercial use of 1-MCP in plums, the efficacy of a post-storage 1-MCP treatment on maturity and quality parameters was evaluated in 'Larry Ann' plums. This treatment was compared to the standard practice that consists to treat the fruit immediately after harvest. 'Larry Ann' plums were harvested at two maturity stages and immediately treated with  $0 \mu\text{L L}^{-1}$  ('control') or  $0.40 \mu\text{L L}^{-1}$  ('pre-storage' treatment) of 1-MCP. After storage both 'control' and 'pre-storage' treated fruits were also treated with  $0.80 \mu\text{L L}^{-1}$  of 1-MCP ('post-storage' and 'combined' treatment, respectively). As expected the pre-storage treatment effectively delayed ethylene production, softening, acidity loss and colour changes in fruits for both harvest dates. Similarly, the post-storage treatment extends the shelf life, but only in early harvested fruits. The combined treatment did not present additional benefits in comparison to the post-storage treatment. Chilling injury (translucency of the pulp) developed in early harvested fruits, and the pre-storage and combined treatments significantly reduced the disorder incidence. Post-storage treatment alone was not effective to prevent chilling injury, supporting our previous results that showed that this disorder in plums was determined during the first days of storage. Collectively these results showed that a post-storage treatment may be an interesting tool to maintain the quality of plum during shelf life. This treatment will result in important benefits for the export companies since it will permit to treat only the selected fruit after removal and extend the time to fill the chamber.

*Keywords: Plums, ripening, chilling injury, 1-MCP, post-storage treatment, harvest maturity, quality*

---

## INTRODUCTION

---

The product 1-methylcyclopropene (1-MCP) has demonstrated to be an interesting tool to increase the storability and shelf life of various fresh fruits (Blankenship and Dole, 2003). In plums, this treatment reduce ethylene production and delays changes in flesh firmness, titratable acidity and epidermis colour during storage (Dong et al., 2001, 2002; Martinez-Romero et al., 2003; Menniti et al., 2004; Candan et al., 2006). In previous works we reported that 1-MCP treatment also prevent the development of chilling injury symptoms (flesh translucency) during cold storage in some plum cultivars such as 'Larry Ann', 'Royal Zee', 'Linda Rosa' and 'Friar' (Candan et al., 2008a). Similarly, a reduction in chilling injury was reported in pineapple and avocado when treated with 1-MCP (Selvarajah et al., 2001; Pesis et al., 2002). It is known that the degree to which ripening processes are inhibited and the quality maintained by 1-MCP treatment depends on several factors as cultivar, doses applied, treatment temperature and duration, fruit maturity, storage conditions and time from harvest to treatment (Blankenship and Dole, 2003).

In general, the responses induced by 1-MCP are dose dependent (Argenta et al., 2003). In plums, the effectiveness of 1-MCP may be dose dependent or independent according to the cultivar (Martínez-Romero et al., 2003). In agreement with those results, no differences were observed when 'Blackamber' plums where treated with 0.15 to 0.60  $\mu\text{L L}^{-1}$  1-MCP, neither in 'Santa Rosa' and 'Black Diamond' treated with 0.50 or 0.75  $\mu\text{L L}^{-1}$  (Candan et al., 2006; Salvador et al. 2003a-b). 'President' plums showed a higher response when treated with 0.50  $\mu\text{L L}^{-1}$  instead of 0.30  $\mu\text{L L}^{-1}$  (Valero et al., 2003).

The temperature of the treatment should be taken into consideration, since some crops showed better results when the 1-MCP treatment was applied at 20 °C (Blankenship and Dole, 2003). 1-MCP treatment at low temperatures showed to be effective in many plum cultivars (Salvador et al., 2003a-b; Martinez-Romero et al, 2003; Valero et al., 2003; Candan et al., 2006). Furthermore, cold treatment has been demonstrated to be as effective that treatment at room temperature. This treatment is then recommended commercially, especially when we consider that rapid cooling also helps to reduce the ripening process (Menniti et al., 2004).

In general, the effect of 1-MCP treatment decreased with advanced maturity at harvest (Blankenship and Dole, 2003). Plums generally follow this scheme but some

variations may be observed between cultivars. No differences between early harvested and late harvested were found for example for the 'Vanier' and 'President' cultivars (Valero et al., 2003). The fruit maturity at harvest also affect chilling injury sensibility, but this effect remains unclear since inconsistent results have been obtained in plums (Taylor et al., 1995; Plich, 1999; Kruger et al., 2003; Ben Amor, 2009).

The time between harvest and 1-MCP application is also an important factor that determines the effectiveness of the treatment. This time varies with the crop species but generally the more perishable the crop, the more quickly after harvest 1-MCP should be applied (Blankenship and Dole, 2003). Based on these results, one of the most important commercial recommendations for a successful 1-MCP application is to treat plums immediately after harvest or in the following 3 days after harvest. This represents an important problem, because more than 3 days are usually needed to fill a standard chamber (1000-1200 bins) and even a small chamber (400-500 bins). Furthermore, packers prefers treating only high quality selected plums and needs enough time to decide to make or not a treatment once the final price of the product is known. That is why a post-storage treatment using directly the container and/or after grading will be of great interest. In our knowledge nothing is known about post-storage 1-MCP treatment in plums. Reapplication treatments in 'Bartlett' pears gave some benefits on ripening depending on storage duration and applied dose (Ekman et al., 2004). Similarly, a second application of  $0.10 \mu\text{L L}^{-1}$  was also more effective in improving pear and avocado quality than only one application after harvest (Calvo, 2002; Pesis et al.; 2002). The aim of this work was to determinate the efficacy of a post-storage 1-MCP treatment in 'Larry Ann' plums. More emphasis was given on the effect of harvest date and on the specific interests of pre- and post-storage treatments especially on quality but also on chilling injury in fruit.

---

## MATERIALS AND METHODS

---

### Plant material

'Larry Ann' plums (*Prunus salicina* Lindl) were harvested from a commercial orchard in Rio Negro, Argentine, at two maturity stages according to flesh firmness on the 25 of January and 8 of February, 2008. Following harvest, three replicates of 20 fruits each one were used to characterize initial maturity.

## 1-MCP treatments

Immediately after harvest fruit with homogenous size and free from defects were sorted in two groups and treated with  $0 \mu\text{L L}^{-1}$  ('control') and  $0.40 \mu\text{L L}^{-1}$  of 1-MCP for 24 hours during the cooling ('pre-storage' treatment). After treatments, the fruit were packaged in carton boxes with plastic liners and PEBD 25 $\mu$  perforated bags and stored at  $0^\circ\text{C}$  for 50 days. Just after removing the fruit from storage, both control and pre-storage treated fruit were treated during 24 hours at  $0^\circ\text{C}$  with  $0.80 \mu\text{L L}^{-1}$  of 1-MCP and labelled as 'post-storage' and 'combined' treatment, respectively. Fruit samples of each treatment were removed from cold storage and kept at  $20^\circ\text{C}$  for ripening to determinate ethylene production and changes in quality parameters.

The 1-MCP treatments were performed using the Smartfresh® product (Agrofresh, Inc., Rohm and Haas, USA) in powder form. The quantity of powder needed to obtain the desired doses in a  $0.86 \text{ m}^3$  container was weighed and placed in a 250 mL bottle. To release 1-MCP, 20 mL of water were added into the bottle closing it immediately. After homogenize the solution, the bottle was opened inside the container just before closing it. 1-MCP treatment was carried out during 24 hours at  $0^\circ\text{C}$  and the container was then opened and thoroughly aerated.

## Determination of ethylene production

The kinetic of ethylene production ( $\mu\text{L kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) was followed at  $20^\circ\text{C}$  immediately after harvest and after removal from cold storage. Three replicates of 6 fruits per treatment were weighed and enclosed in 3 L airtight jars during 30 minutes at  $20^\circ\text{C}$ . One gas sample was taken from the headspace using a 1 mL syringe and injected into a gas chromatograph (GC-14A, Shimadzu, Japan) equipped with an activated alumina column (50 x 80 mm) and a FID detector. Gas analysis was conducted isothermally at  $40^\circ\text{C}$ . The injector and detector temperatures were held at  $180^\circ\text{C}$  and  $210^\circ\text{C}$ , respectively, and helium was used as carrier gas.

## Flesh firmness, soluble solids content and titratable acidity

Changes in flesh firmness, soluble solids content (SSC) and titratable acidity (TA) were determined on three replicates of 20 fruits per treatment after 50 days of cold storage and after 0, 3 and 7 days of shelf life at  $20^\circ\text{C}$ . Firmness (N) was measured on two opposite sides of each fruit after peeling and with an electronic penetrometer (FTA-14, GÜSS, South Africa) fitted with an 8 mm plunger. Pieces of each fruit were



juiced to measure SSC (%) with a digital refractometer (PAL1, Atago, Japan), and TA (%) by titration with NaOH 0,1 N to an end point of pH 8,2 using 10 mL of the juice previously extracted and diluted in 50 mL distilled water.

## Colour and chilling injury assessment

Epidermis colour was measured visually as coverage percentage with red colour. Epidermis colour was also instrumentally determined on the blushed side (superficial colour) and on the greener side (background colour) of each fruit with a colorimeter (CR-300, Minolta, Japan). The results were expressed in the CIELab colour space system (hue angle and chroma). Flesh reddening and chilling injury (CI) symptoms (as flesh translucency) were assessed visually on three replicates of 20 fruits per treatment after 50 days of cold storage and after 0, 3 and 7 days of shelf life at 20 °C by cutting each fruit in half along the equatorial axis. For both symptoms, the results were expressed as percentage of affected fruits (%) and severity of the symptom. The severity was defined visually determining the percentage of affected pulp as follow: Grade 1 (<25%), Grade 2 (25 to 50%), Grade 3 (50 to 75%) and Grade 4 (>75%) and calculated as follows:

$$\text{Severity} = \frac{\sum (\text{severity grade}) \times (\text{fruits at this grade})}{\sum (\text{affected fruits})}$$

## Statistical analysis

Data were analyzed for significant differences by applying variance analysis (ANOVA) using the SAS (Statistical Analysis System) statistical package and were subjected to mean separation by the LSD (least significant difference) test ( $P < 0.05$ ).

## RESULTS

### Ethylene production and fruit quality at harvest

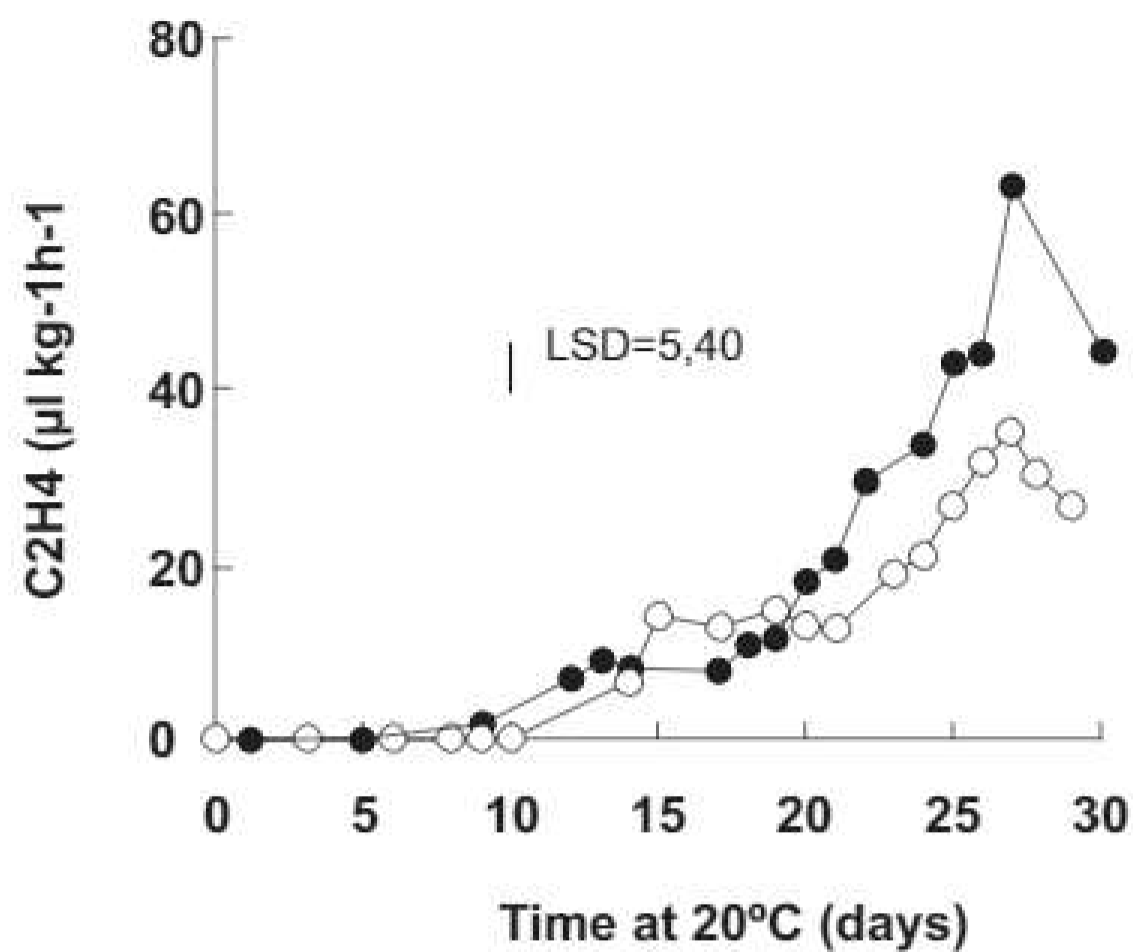
According to ethylene production fruits from both harvest dates were in a pre climacteric stage (Figure 1). In early harvested fruits, ethylene production rate was undetectable during the first 10 days of ripening at 20 °C and then increased until to reach a climacteric peak of 35  $\mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$  after 27 days. In late harvested fruits, the ethylene production started to increase after 5 days at 20 °C and reached a two fold higher climacteric peak (63  $\mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) after 26 days.

Fruit weight and diameter were not affected by harvest date, suggesting that fruits had already reached its final size at the first harvest (Table 1). Similarly, neither SSC nor TA differed with harvest date. In contrast, significant differences of firmness were observed between harvest dates since early harvested fruits were firmer (55.1 N) than late harvested fruits (37.5 N). Epidermis colour and flesh colour were also influenced by harvest date. Red colour coverage increases from 57.6% to 85.4% and hue values corresponding to both superficial and background colour decreased, showing changes from red to dark-red and from green to yellow, respectively. On the other hand, no flesh reddening was observed in early harvested fruits, but 56.7% of fruits were affected in the latest harvest (Table 1).

**Table 1.** Fruit quality parameters of early and late harvested 'Larry Ann' plums at harvest. Values represent means of three replications.

	Early harvest (25 January)	Late harvest (8 February)
Weight (g)	70,6 a	78,6 a
Diameter (mm)	50,5 a	52,9 a
Flesh Firmness (N)	55,1 b	37,5 a
SSC (%)	12,5 a	12,9 a
TA (%)	1,80 a	1,76 a
Epidermis colour		
Coverage (%)	57,6 a	85,4 b
Superficial colour (hue <sup>o</sup> )	14,6 a	8,8 b
Background colour (hue <sup>o</sup> )	104,0 b	98,6 a
Flesh colour (reddening)		
Affected fruits (%)	0,00 a	56,7 b
Severity (1-4)	0,00 a	1,41 b

Values within a row followed by the same letter are not significantly different ( $P < 0.05$ )



**Figure 1.** Ethylene production rate of early (○) and late (●) harvested 'Larry Ann' plums during ripening at 20 °C after harvest. Values represent means of three replications.

### Effect of pre and post-storage treatments on ethylene production

Ethylene production remained low after 50 days of cold storage but increased when the fruit were transferred to ambient temperature (Figure 2). Control fruits showed a rapid increase in ethylene production and reached a climacteric peak after 8 days of shelf life at 20 °C, irrespective of the harvest date. All the 1-MCP treatments significantly delayed the ethylene production both in early and late harvested fruits that showed a climacteric peak after 14 and 12 days respectively. The magnitude of the climacteric was lower in late harvested fruit than in early harvested fruits (Figure 2). No significant differences were found between the pre-storage, the post-storage and the combined 1-MCP treatments.

### Effect of harvest date and post-storage 1-MCP treatments on fruit quality

Immediately after 50 days of storage at 0 °C, no differences in flesh firmness were observed between control (46.4 N) and pre-storage treated fruits (49.4 N) for the early

harvest (Figure 3A). In contrast, the control fruits of the late harvest were significantly softer (28.7 N) than the pre-storage treated fruits (40.0 N) (Figure 3B). During the shelf life period at 20 °C, both early and late harvested control fruits showed a progressive softening reaching a value of 10,6 N and 7,6 N after 7 days respectively. The pre-storage treatment significantly reduced the firmness loss in fruits from both harvest dates and during all the experimental period. Interestingly, the post-storage treatment was as effective as the pre-storage treatment in reducing firmness loss in early harvested fruit. In late harvested fruit, the post-storage treated fruits showed a two fold higher firmness values (14 N) than controls after 7 days of shelf life, but differences were not significant. In this last case, the kinetic of firmness loss for the pre-storage or combined treated fruits was similar to control fruits showing that the differences are mainly the result of differences in initial firmness values. In comparison to pre-storage treatment, no additive benefits on firmness were observed with the combined treatment both in early and late harvested fruits.

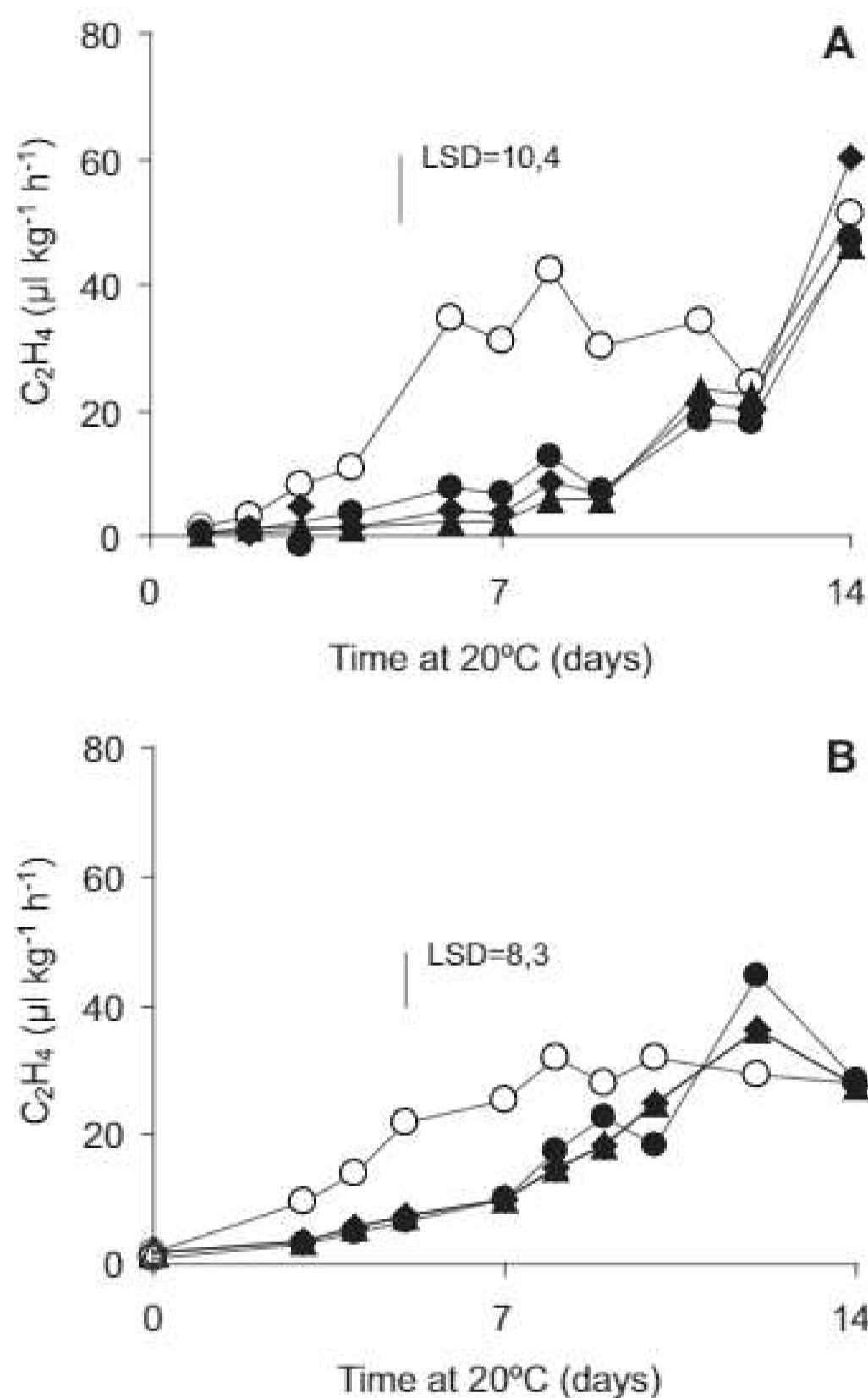
In general, the acidity of the fruit (TA values) decreases during the shelf life period. Both the pre and post-storage treatment maintained the acidity levels during all the commercial life in the early harvested fruits. In late harvested fruit, pre-storage treated fruit (alone or in combination) remained slightly more acids. The fruits exposed to the combined treatment showed the same behaviour than the pre-storage treated fruits. SSC remained relatively stable over the storage and shelf life period, irrespective of the treatment and the harvest date (Figure 3).

The epidermis superficial colour of the fruits from both harvest dates was stable during the cold storage period but changed from red to dark deep purple during the shelf life. Such change in colour was manifested by a decrease in the chroma value (Figure 4) more than in hue angle value (data not shown). In early harvested fruits, both pre and post-storage treated fruit maintained higher chroma values than control, while in late harvested fruits only the pre-storage treatments (alone or in combination) were effective (Figure 4). Immediately after 50 days of storage at 0 °C, no differences in flesh reddening were observed irrespective of treatment. However, during the first 3 days of shelf life, the pre-storage treatments (alone or combined) delayed the flesh reddening, but only in early harvested fruits (Figure 4).

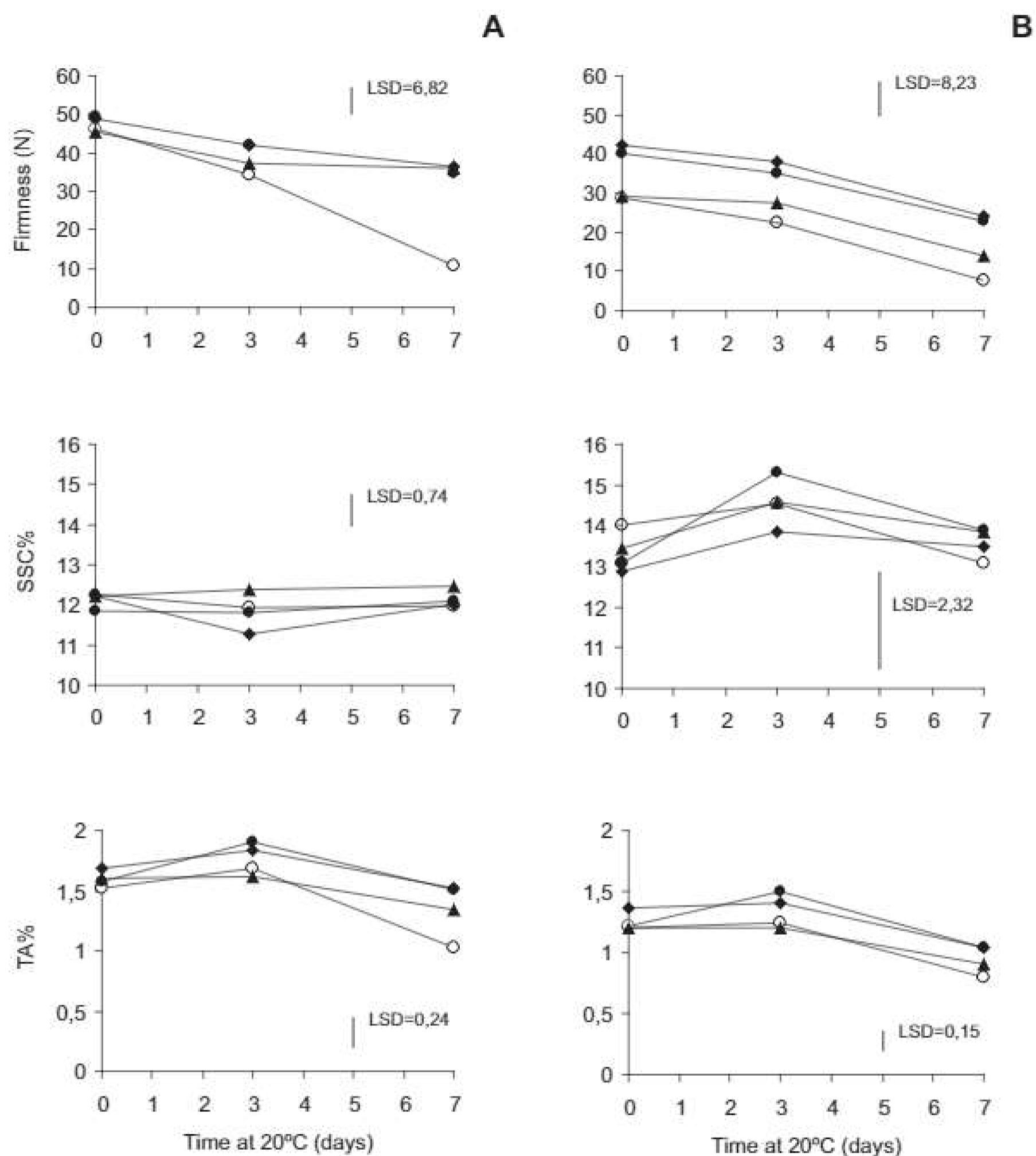
### Effect of pre and post-storage treatments on chilling injury

Chilling injury did not affect plums storage potential in this trial. Immediately after cold storage, late harvested fruits did not manifest chilling injury and only a low

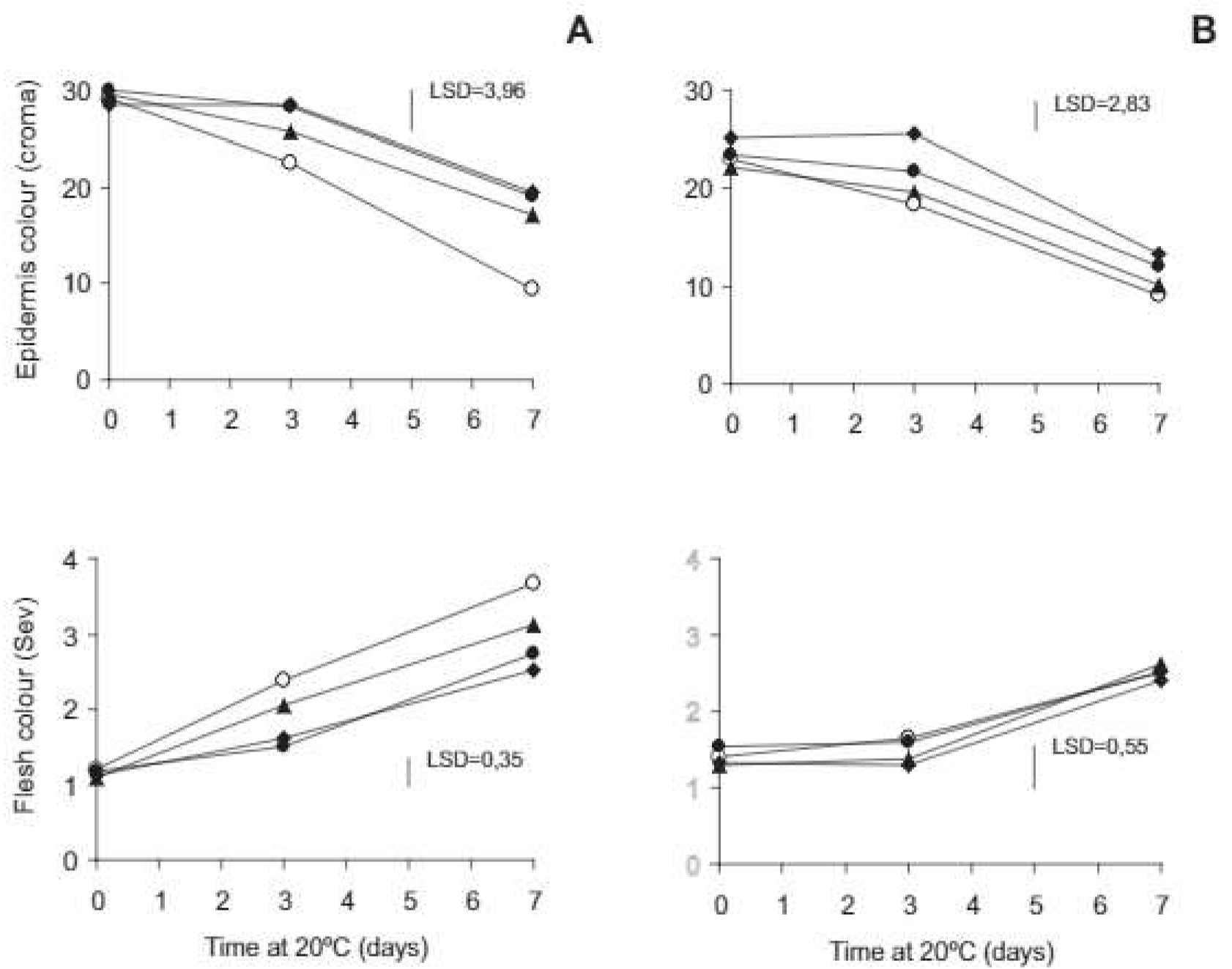
percentage of early harvested fruits showed translucency symptoms. In control and post-storage treated fruits, from early harvest, the incidence of this symptom significantly increased from 5% at removal from cold storage, to 15% after 7 days of shelf life. Lower disorder incidence was found in the pre-storage treated fruits with a two-fold decrease after 7 days of self life at 20 °C.



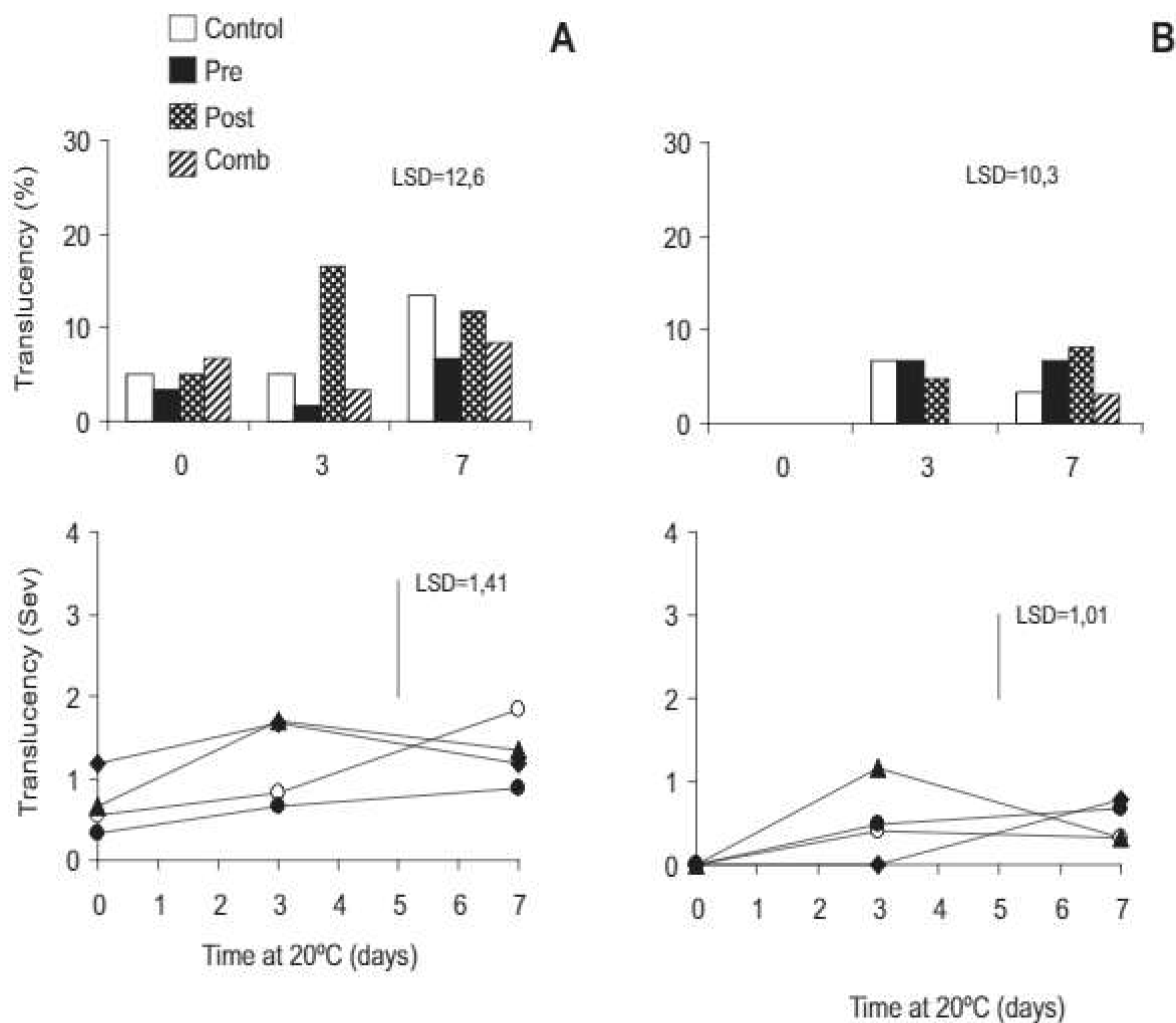
**Figure 2.** Ethylene production rate of early (A) and late (B) harvested 'Larry Ann' plums during ripening at 20°C after 50 days of storage at 0 °C. Control (○), pre-storage treatment (●), post-storage treatment (▲) and combined treatment (◆). Values represent means of 6 different fruit. Bar = LSD (p=0.05).



**Figure 3.** Changes in firmness, SSC and TA of early (A) and late (B) harvested 'Larry Ann' plums during ripening at 20°C after 50 days of storage at 0°C. Control (O), pre-storage treatment (●), post-storage treatment (▲) and combined treatment (◆). Values represent means of 60 fruits. Bar = LSD (p=0.05).



**Figure 4.** Changes in epidermis superficial colour and flesh colour (redening) of early (A) and late (B) harvested 'Larry Ann' plums during ripening at 20°C after 50 days of storage at 0°C. Control (○), pre-storage treatment (●), post-storage treatment (▲) and combined treatment (◆). Values represent means of 60 different fruit. Bar = LSD (p=0.05).



**Figure 5.** Flesh translucency development in early (A) and late (B) harvested 'Larry Ann' plums during ripening at 20 °C after 50 days of storage at 0 °C. Control (○), pre-storage treatment (●), post-storage treatment (▲) and combined treatment (◆). Values represent means of 60 different fruit. Bar = LSD ( $p=0.05$ ).



### Specific effect of harvest date

Because of their low ethylene levels at harvest (Figure 1), fruits from both harvest date should be classified as pre-climacteric. However and despite of this similarity, the fruit independently of harvest date exhibited great differences in firmness loss during storage (time 0 of Figure 3). In contrast, during the commercial life firmness loss depended on harvest date. Both results showed that the fruit even producing low levels of ethylene at harvest were picked at different physiological stage. When not treated with 1-MCP, early-harvested fruit softened quickly during shelf life because of an increase in ethylene production. In contrast, late harvested fruit even treated with 1-MCP exhibited similar pattern of firmness loss during shelf life. The differences between the samples were only due to the differences in firmness that occurred during storage. This may indicate that the softening process during shelf life period in late harvested fruit is ethylene independent. This also indicates that the activity of cell wall modifying enzymes such as polygalacturonases was increased before the 1-MCP treatment (Tatsuki et al., 2007). These results are also in accordance with the idea that late harvested fruit are in general less sensitive to 1-MCP treatment (Harris et al., 2000; Fan et al., 2000; Argenta et al., 2005; Gutierrez et al., 2008). This lowest sensitivity is likely due to differences in receptor turn-over but surely also involves genetic regulations, ethylene-independent pathways that are expressed during cold storage.

For both harvest date, only few changes in SSC level were found between treatments. This result confirms the literature that present the changes in sugars levels in the fruit as an ethylene independent process. Inversely, 1-MCP especially when applied at pre-storage maintained the acidity levels in the fruit during commercial life. No differences in kinetics were found between harvest date and treatment indicating that acidity loss was not related to ethylene but rather to other metabolic process like respiration.

### Specific effect on ethylene production

Immediately after removal from cold storage all the different samples produced very few amounts of ethylene (Figure 2). These amounts rapidly increased during shelf life period in control fruit and much more than after harvest showing that cold storage induced an activation of ACC metabolism (Larrigaudière et al., 2009). In contrast, 1-MCP treated fruit exhibited a delay in ethylene production very similar than after

harvest (Figure 1). This result clearly indicates that 1-MCP treatment independently of the time of application (pre or post-storage) may reduce the harmful effects that cold temperature has on ACC metabolism. The key regulatory element has likely to be found in the ethylene receptors. We suppose that pre-storage 1-MCP treatment mainly acted blocking the ethylene receptors present at harvest. The fact that these fruit did not produce ethylene after removal indicates that there was not a synthesis of new receptors during cold storage but also during shelf life. Post-storage 1-MCP treatment was as effective that pre-storage treatment to inhibit the ethylene production upon removal. As for this first treatment, post-storage treatment surely delayed the synthesis of new receptors during shelf life causing the delay in ethylene production.

### Specific effect on flesh firmness

Fruit softening is known to be one of the ripening processes most sensitive to ethylene (Lelièvre et al., 1997). In 'Larry Ann' plums this relation was not clear and strictly dependent from harvest date. According to our results, early harvested fruit did not soften during storage but softened during shelf life in an ethylene dependent manner that may be modulated by 1-MCP treatment. In contrast, late harvested fruit mainly softened during storage but similarly during shelf life period (same pattern of softening) and independently of the 1-MCP treatment. Collectively these results indicate that the best way to maintain the quality of plums depends on the adequate selection of harvest date. Application of 1-MCP in late harvested fruit could be helpful especially when it is applied as a pre-storage treatment and only when it is accompanied by an adequate storage management (temperature, duration) that will permit to reduce firmness loss during storage. The important question now remains to know how firmness loss occurred during cold storage. Does it occur following a linear model? This information will be very useful to determine the minimum requirement of firmness at harvest but also the suitable duration of storage. Others works are needed in this direction, they will be helpful to effectively apply the 1-MCP technology in late harvested fruit.

### Specific effect on chilling injury incidence

In this trial, only early harvested fruits manifested translucency symptoms and this is an important consideration to take into account for the prevention of CI disorder in plums. The pre-storage treatment reduced translucency symptoms but no effect was observed with the post-storage treatment. This result is in accordance with our previous works (Candan et al., 2008b; Larrigaudière et al., 2009) in which we

hypothesized that although the symptoms occur after long term storage, chilling injury is initiated by an exacerbated climacteric behaviour during short-term cold storage. As a consequence, the post-storage treatment was not effective to prevent this disorder.

In this trial, the post-storage treatment was conducted in fruits that have already manifested the CI symptoms, which indicates an irreversible injury (Bramlage and Mair, 1990). Further research is needed to know if a post-storage treatment may reduce chilling injury in fruit that still have not visible symptoms.

### Specific interest of post-storage 1-MCP application in plums

Commercial use of 1-MCP may be affected by many factors including the product response, how 1-MCP treatment can be used successfully during handling, storage and transport processes and whether it provides advantages for marketing. Although plums have an excellent response to 1-MCP treatment, this technology is not extensively used at a commercial level. One of the reasons is that a commercial recommendation for a successful 1-MCP application is to treat plums immediately after harvest or in the following 3 days after harvest. This recommendation represents a problem because 3 days are usually not enough to fill a chamber and even to decide if the 1-MCP treatment will be convenient or not.

Results presented in this trial showed that a post-storage treatment may improve the shelf life of 'Larry Ann' plums, but maturity at harvest and storage duration should be taken in account. The benefits of a post-storage treatment are then the following: a) the time between harvest and treatment is extended and this will be useful for the management of harvest, b) with more time, the manager may select the fruit and treat only the selected fruit even after packaging since 1-MCP treatment is also effective in packaged fruits c) fruits should be treated in refrigerated containers before shipping, during the transport or even at the destination point, d) the decision to make the treatment can be taken once the price and the destinations are decided, e) post-storage 1-MCP treatment finally permit to prolong the shelf life of cold stored fruits. Collectively these advantages will increase the flexibility and the efficacy of the 1-MCP technology in plums.

---

### ACKNOWLEDGEMENTS

---

This research was supported by INTA, Alto Valle, Argentina. The authors gratefully acknowledge the Rohm and Haas Company for providing the Smartfresh™ product. Special thanks to Wendy Schotsmans for reviewing.

---

## REFERENCES

---

- Argenta, L.C., Fan, X.F. and Mattheis, J.P. 2005.** *Factors affecting efficacy of 1-MCP to maintain quality of apples fruit after storage. Acta Horticulturae 682, 1249-1256.*
- Argenta, L.C., Krammes, J.G., Megguer, C.A., Amarante, C.V., Mattheis, J.P. 2003.** *Ripening and quality of 'Laetitia' plums following harvest and cold storage as affected by inhibition of ethylene action. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 38, 1139-1148.*
- Ben Amor, M. 2009.** *Effect of ethylene levels at harvest on 1-methylcyclopropene (1-MCP) efficiency and chilling injury sensitivity of plum. 6th International Postharvest Symposium, Antalya (Turkey), Abstracts Book, 220.*
- Blankenship, S., Dole, J.M. 2003.** *1-Methylcyclopropene: a review. Postharvest Biology and Technology 28, 1-25.*
- Bramlage, W.J., Mair, S. 1990.** *Chilling injury of crops of temperate origin. In: Wang, C.Y. (Ed.) Chilling injury of horticultural crops. Chapter 3: 37-50. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.*
- Calvo, G. 2003.** *Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on pear maturity and quality. Acta Horticulturae 628, 203-211.*
- Candan A.P., Graell J., Crisosto C., Larrigaudière C. 2006.** *Improvement of storability and shelf life of 'Blackamber' plums treated with 1-methylcyclopropene. Food Science and Technology International 12, 437-443.*
- Candan A.P., Graell J., Larrigaudière C. 2008 b.** *Roles of climacteric ethylene in the development of chilling injury in plums. Postharvest Biology and Technology 47, 107-112.*
- Candan, A. P., Calvo, G. Gomila, T. 2008 a.** *Extensión de la vida comercial de ciruelas Royal Zee, Linda Rosa y Friar. Proceedings XXXI Congreso Argentino de Horticultura, Mar del Plata, 30 septiembre al 3 de octubre, 2008. ASAGO, Libro de resúmenes, pp. 178*
- Dong, L., Zhou, H. W., Sonogo, L., Lers, A., Lurie, S. 2001.** *Ripening of Red Rosa plums: effect of ethylene and 1-methylcyclopropene. Australian Journal of Plant Physiology 28, 1039-1045.*
- 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.

**Fan, X., Argenta, L., Mattheis, J.P. 2000.** *Inhibition of ethylene action by 1-methylcyclopropene prolongs storage life of apricots. Postharvest Biology and Technology* 20, 135-142.

**Gutierrez, M. S., Trincherro, G. D., Cerri, A. M., Vilella, F., Sozzi, G. O. 2008.** *Different responses of Goldenberry fruit treated at four maturity stages with the ethylene antagonist 1-methylcyclopropene. Postharvest Biology and Technology* 48, 199-205.

**Harris, D.R., Seberry, J.A., Wills, R.B.H., Spohr, L.J. 2000.** *Effect of fruit maturity on the efficiency of 1-methylcyclopropene to delay the ripening of banana. Postharvest Biology and Technology* 20, 303-308.

**Kruger, L., Cook, N., Holcroft, D. M. 2003.** *Quality of Japanese plums as influenced by time of harvest and rate of ethylene production. Acta Horticulturae*, 600: 453-456.

**Larrigaudière C., Candan A. P., Ubach, D., Graell J. 2009.** *Physiological response of 'Larry Ann' plums to cold storage and 1-MCP treatment. Postharvest Biology and Technology* 51, 56-61.

**Lelièvre J.M., Latché A., Jones B., Bouzayen M., Pech J.C. 1997.** *Ethylene and fruit ripening. Physiologia Plantarum* 101, 727-739.

**Martínez-Romero, D., Dupille, E., Guillén, F., Valverde, J.M., Serrano, M., Valero, D.J. 2003.** *1-Methylcyclopropene increases storability and shelf life in climacteric and nonclimacteric plums. Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 4680-4686.

**Menniti, A.M., Gregori, R., Donati, I. 2004.** *1-Methylcyclopropene retards postharvest softening of plums. Postharvest Biology and Technology* 31, 269-275.

**Pesis, E., Ackerman, M., Ben-Arie, R., Feygenberg, O., Feng, X., Apelbaum, A., Goren, R., Prusky, D. 2002.** *Ethylene involvement in chilling injury symptoms of avocado during cold storage. Postharvest Biology and Technology* 24, 171-181.

**Plich, H. 1999.** *The effect of storage conditions and date of picking on storability and quality of some plum (*Prunus domestica* L.) fruit cultivars. Acta Horticulturae* 485, 301-307.

**Salvador, A., Cuquerella, J., Martínez-Jávega, J.M. 2003 a.** *1-MCP treatment prolongs postharvest life of 'Santa Rosa' plums. Sensory and Nutritive Qualities of Food* 68, 1504-1510.

**Salvador, A., Cuquerella, J., Ubeda, S. 2003 b.** *1-Methylcyclopropene delays ripening process of 'Black Diamond' plum. Acta Horticulturae* 599, 59-63.

**Selvarajah, S., Bauchot, A. D., John, D. 2001.** *Internal browning in cold storage pineapples is suppressed by a postharvest application of 1-MCP. Postharvest Biology and Technology* 23, 167-170.

**Tatsuki, M., Endo, A., Ohkawa, H. 2007.** *Influence of time from harvest to 1-MCP treatment on apple fruit quality and expression of genes for ethylene biosynthesis enzymes and ethylene receptors. Postharvest Biology and Technology* 43, 28-35.

**Taylor, M.A., Rabe, E., Jacobs, G., Dodd, M.C. 1995.** *Effect of harvest maturity on pectic substances, internal conductivity, soluble solids and gel breakdown in cold stored 'Songold' plums. Postharvest Biology and Technology* 5, 285-294.

**Valero, D., Martínez-Romero, D., Valverde, J.M., Guillén, F., Serrano, M. 2003.** *Quality improvement and extension of shelf life by 1-methylcyclopropene in plum is affected by ripening stage at harvest. Innovative Food Science & Emerging Technologies* 4, 339-348.

## **CAPÍTULO 6**

### **QUALITY AND CHILLING INJURY DURING STORAGE OF DIFFERENT PLUM CULTIVARS: BENEFITS OF 1-METHYLCYCLOPROPENE TREATMENT**

Ana Paula Candan<sup>1</sup>  
Jordi Graell<sup>2</sup>  
Christian Larrigaudière<sup>2</sup>

<sup>1</sup> INTA Alto Valle, C.C. 782 (8332) General Roca, Río Negro, Argentina.

<sup>2</sup> UdL-IRTA Center, XaRTA, Rovira Roure 191, 25198 Lleida, España.

**Artículo en preparación**





---

## ABSTRACT

---

The aim of this work was to evaluate the effect of 1-MCP treatment on the development of chilling injury in 'Royal Zee', 'Linda Rosa', 'Friar' and 'Angeleno' plums. Significant differences in ripening were found between the cultivars after long-term storage. Among the climacteric cultivars, 'Royal Zee' plums showed a higher ethylene production rate than 'Linda Rosa' and 'Friar' cultivars. On the other hand, the 'Angeleno' cultivar behaved as a suppressed climacteric type. The development of translucency symptoms was higher in 'Royal Zee' than in 'Linda Rosa' and 'Friar' plums, and was almost absent in the suppressed climacteric cultivar. 1-MCP treatment significantly reduced ethylene production and the percentage of fruit affected by translucency in all climacteric cultivars. This treatment also delayed the ripening of the fruit during shelf life. In contrast, 1-MCP treatment did not affect the quality of 'Angeleno' plums. Collectively these results suggest that the development of chilling injury in plums is linked to the climacteric behaviour of the cultivar. They also highlighted the beneficial effects that 1-MCP treatment had on plum quality during storage.

*Keywords: ripening pattern, ethylene production, storage, firmness, translucency*

---

## INTRODUCTION

---

High softening rates and susceptibility to chilling injury are the main factors limiting plums' commercial life (Taylor et al., 1993). Refrigeration is currently the most widely-used technology to reduce fruit softening, being temperatures below 0°C but above freezing point the most suitable (Crisosto et al., 1999). However, long-term storage under such circumstances favours the development of chilling injury (CI) symptoms such as flesh translucency and browning. As symptoms usually appear after the shelf-life period, consumers are usually the ones who spot this problem and complain. Flesh translucency is one of the most frequently observed symptoms in plums; it presents itself as a translucent and gelatinous area around the stone, also characterized by a loss of juiciness (Taylor et al., 1993). Although flesh translucency is considered as a main symptom, others fruits develop lack of juiciness (mealiness or woolliness) or flesh browning.

The physiological basis of CI in plums remains to be better explained. According to Lyons (1973) CI injury is linked to an initial stress response that induces changes in membrane structure and permeability. Membrane imbalance leads to decompartmentation and to the release of toxic phenols and enzyme causing the browning symptoms. Flesh translucency is also associated to loss of membrane permeability but also to an increase in soluble pectins that form a gel in the intercellular spaces causing the translucency symptoms.

But what is the initial stress response, the initial biochemical change triggering the CI symptoms in plums. In a previous study in which we analysed the effects of cold stress in 'Larry Ann' plums (Larrigaudière et al., 2009), we showed that CI symptoms were not caused by an oxidative stress. In contrast, significant changes in ethylene metabolism and especially in the levels of 1-malonyl-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (MACC) were found in response to cold stress. In general ethylene has been related to the development or worsening of different physiological disorders associated to chilling injury (Kader, 1985). 1-methylcyclopropene (1-MCP) as an inhibitor of ethylene action is effective to reduce the appearance of chilling injury in pineapples (Selvarajah et al., 2001) and in different avocado cultivars (Pesis et al., 2002). This treatment can also reduce translucency incidence in 'Blackamber' (Candan and Calvo, 2005), 'Fortune' (Menniti et al., 2006) and 'Larry Ann' (Candan et al., 2008) cultivars. However, this effect cannot be generalized, as both susceptibility to chilling injury (Crisosto et al., 1999; Candan et al., 2008) and response to 1-MCP treatment

(Abdi et al., 1998, Martínez-Romero et al., 2003; Valero et al., 2005) are cultivar-dependent.

The aim of this work was to evaluate the effect of 1-MCP treatment on the development of chilling injury symptoms in various plum cultivars. Another objective was also to determine the relationship between the climacteric behaviour of the cultivar and its sensitivity to CI in order to confirm the hypothesis that CI symptoms in plums are triggered by increased ethylene production.

---

## MATERIAL AND METHODS

---

### Plant material

Japanese plums (*Prunus salicina* L.) of 'Royal Zee', 'Linda Rosa', 'Friar' and 'Angeleno' cultivars were harvested from a commercial orchard in Río Negro (Argentina), according to fruit firmness. The fruit was immediately taken to the laboratory, where maturity at harvest was determined on 3 repetitions of 20 fruit each. For each cultivar, the fruit were divided into two homogeneous lots, treated with 0 (Control) or 0.40  $\mu\text{L L}^{-1}$  of 1-MCP for 24 hours during fruit-cooling. The fruits were stored at 0°C and 90 % RH for 30 and 50 days and the quality parameters evaluated after removal from the chamber and after 3 and 7 days of shelf life at 20°C on 3 repetitions of 20 fruit each.

### Firmness, soluble solids content (SSC), Titratable acidity (TA) and epidermis colour

Flesh firmness (N) was determined with an electronic Fruit Texture Analyser (FTA-GS14, Güss, South Africa) with an 8 mm-diameter plunger, on both cheeks of the fruit after skin removal. Two slices of flesh were taken from each fruit and juiced to determinate SSC (%) with a digital refractometer (PAL-1, Atago, Japan) and TA (%) by titration of 10 mL of juice with 0.1N NaOH to a pH of 8.2. The epidermis colour was determined with a tristimulus colorimeter (CR-300, Minolta, Japan), on two well-coloured areas on each fruit after removing the epicuticular wax. Data are expressed in coordinates  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ , used to calculate hue and chroma.

### Flesh colour and chilling injury symptoms

Flesh colour and chilling injury (CI) development were assessed visually by cutting

each fruit on half along the equatorial axis. A 4-grade visual scale according to the percentage of flesh coloured or injured was used: Uninjured (0%), G1 (up to 25%), G2 (25 - 50%), G3 (50-75%) and G4 (75- 100%). Intensity of coloration and severity of CI were calculated as the total number of fruit in each grade multiplied by the grade and divided by the total of injured fruit. Chilling injury was also expressed as percentage of affected fruits.

## Ethylene production

Ethylene production rates ( $\text{nL g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) was determined on 3 repetitions of 6 fruit each, during 21 days or until the climacteric maximum was reached. The fruit were weighed and enclosed in 3-liter jars for 30 minutes at  $20^\circ\text{C}$  and then, 1 mL sample was extracted from the headspace. The sample was analysed with a gas chromatograph (GC-14A, Shimadzu, Japan) equipped with an alumina column ( $40^\circ\text{C}$ ) and a FID detector ( $210^\circ\text{C}$ ). Helium was used as carrier gas.

---

## RESULTS

---

### Fruit characteristics at harvest

The fruit were harvested at the optimum maturity, according to local recommended firmness values and as described in Table 1. Ethylene production at harvest differed significantly between the cultivars under study. 'Royal Zee' plums presented a rapid increase in ethylene production, reaching a maximum of  $198.5 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  after 9 days at  $20^\circ\text{C}$ . 'Linda Rosa' and 'Friar' plums did not reach a clear climacteric peak but presented a slow increase in ethylene production with maximum values of  $21.2 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  and  $17.3 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  after 17 and 20 days, respectively, maintained at  $20^\circ\text{C}$ . Finally, ethylene production of 'Angeleno' plums remained steady and under  $1 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  throughout the study period.

**Table 1.** Maturity parameters at harvest of 'Royal Zee', 'Friar', 'Linda Rosa' and 'Angeleno' plums. Each value represents the average  $\pm$  standard deviation, for 3 samples of 20 fruit each.

	<b>'Royal Zee'</b>	<b>'Linda Rosa'</b>	<b>'Friar'</b>	<b>'Angeleno'</b>
Weight (g)	64.73 $\pm$ 2.95	98.58 $\pm$ 5.70	90.01 $\pm$ 1.26	87.34 $\pm$ 4.19
Firmness (N)	53.46 $\pm$ 4.17	41.26 $\pm$ 0.36	45.08 $\pm$ 2.30	34.84 $\pm$ 1.21
SSC (%)	11.17 $\pm$ 0.51	14.27 $\pm$ 0.71	12.03 $\pm$ 0.25	15.20 $\pm$ 0.20
TA (%)	2.23 $\pm$ 0.03	1.63 $\pm$ 0.10	1.61 $\pm$ 0.14	1.16 $\pm$ 0.07
Colouring (%)	18.35 $\pm$ 2.74	82.92 $\pm$ 7.14	95.00 $\pm$ 0.00	100 $\pm$ 0.00

### Effect of cold storage and 1-MCP on ethylene production

The 'Royal Zee' plum fruit presented a rapid increase in ethylene production when removed from the cold storage chamber, producing lower ethylene at the maximum of the climacteric than after harvest but in fewer days (Figure 1). 1-MCP treatment significantly delayed the start of ethylene production after 30 days of storage and reduced the maximum of the climacteric after 30 and 50 days of storage.

After storage at 0°C, 'Linda Rosa' and 'Friar' plums presented an increase in their ethylene production capacity when compared to the values observed at harvest, and control fruit exhibited a clear climacteric peak during shelf life at 20°C. 1-MCP treatment delayed the occurrence of the climacteric peak in the 'Linda Rosa' cultivar both after 30 and 50 days of storage at 0°C (Figure 2). A similar behaviour was found for the 'Friar' cultivar with a complete inhibition of ethylene production after 30 days of storage (Figure 3). Low-temperature storage did not affect the ethylene production rates in 'Angeleno' cultivar, which remained lower than 3 nL g<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup> throughout the entire study period and without any differences between control fruit and 1-MCP-treated fruit (Figure 4).

## Effect of cold storage and 1-MCP on ripening parameters

As for ethylene production, the evolution of maturity parameters during shelf life was cultivar dependent. 'Royal Zee' control fruit softened rapidly while 1-MCP-treated fruit presented significantly higher firmness values up to 3 days of shelf life but not after 7 days of shelf life at 20°C (Figure 1). 'Linda Rosa' and 'Friar' control fruit rapidly lost firmness during shelf life, while 1-MCP-treated fruit softened more slowly and maintained significantly higher firmness values up to 7 days of shelf life, both after 30 and 50 days of cold storage (Figures 2 and 3). The 'Angeleno' cultivar presented very slow softening during shelf life, without any significant differences observed between control fruit and 1-MCP-treated fruit (Figure 4).

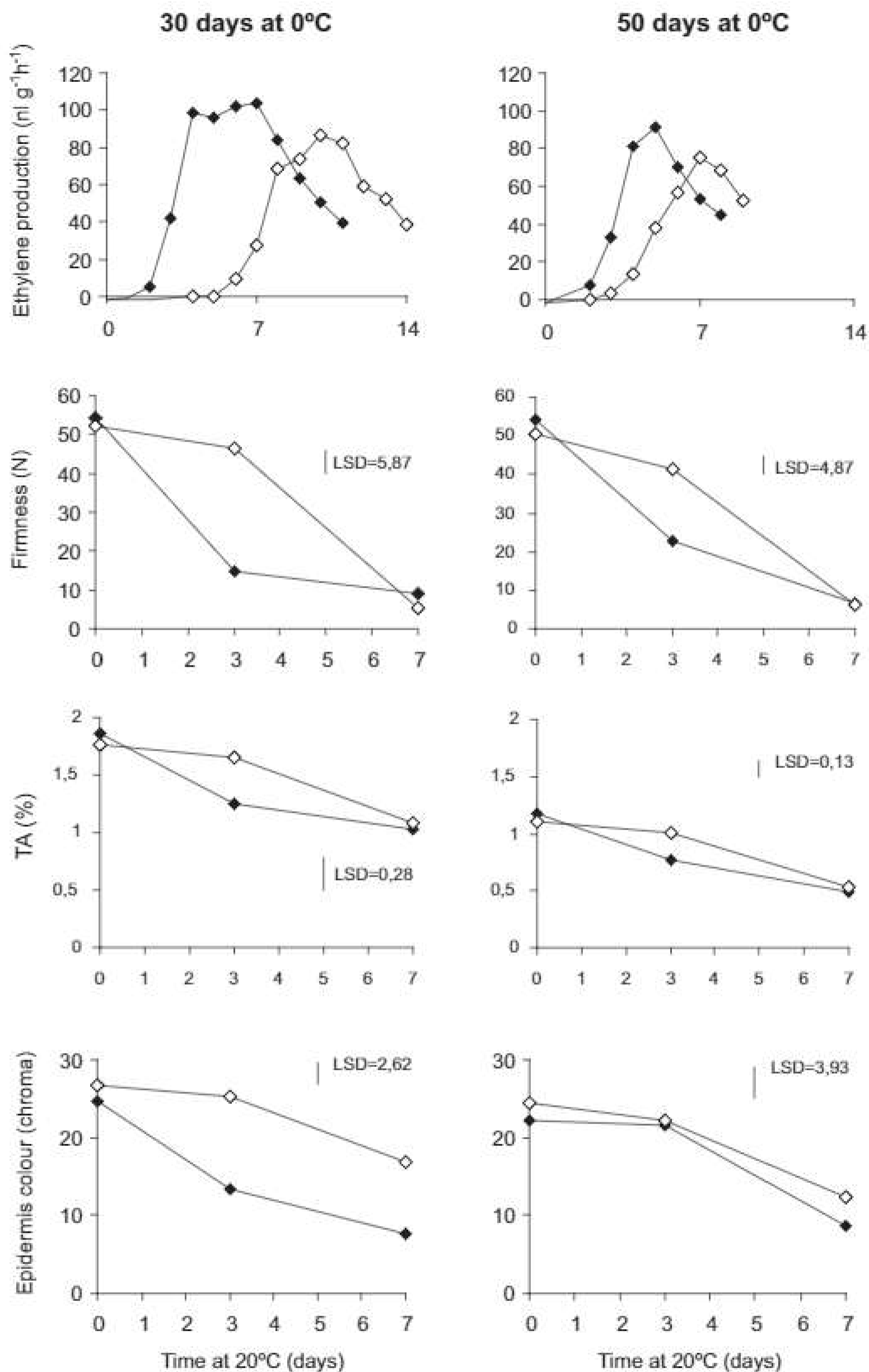
Except for the 'Angeleno' cultivar, the fruit presented a decrease in TA during cold storage and subsequent shelf life. 1-MCP treatment delayed TA loss during shelf life and significant differences were found after 3 days of shelf life for 'Royal Zee' plums, and after 7 days of shelf life for 'Linda Rosa' and 'Friar' plums (Figures 1, 2, 3). SSC (%) remained steady throughout storage and shelf life and was not affected by 1-MCP treatment in any of the cultivars (data not shown).

The 'Angeleno' cultivar did not show significant epidermis colour changes and no differences were observed between control fruit and 1-MCP-treated fruit (Figure 4). In contrast, the epidermis colour turned from red to purple in 'Royal Zee' and 'Linda Rosa' plums, and from purple to black in the 'Friar' cultivar fruit. Between the different chromaticity parameters studied, the chroma was the parameter that best reflected colour changes in plums. As colour increased, significant decrease in chroma values were observed during shelf life. 1-MCP-treated fruit maintained higher chroma values during shelf life after 30 days of storage in 'Royal Zee' plums and after 30 and 50 days of storage in 'Linda Rosa' and 'Friar' plums (Figures 1, 2, 3). As observed for epidermis colour, all cultivars except 'Angeleno' developed red flesh colour (Table 2). The effect of 1-MCP on these characteristics was lower in 'Royal Zee' than in 'Linda Rosa' plums, and in the latter than in 'Friar' plums, in which 1-MCP totally inhibited the development of red flesh colour up to 50 days of storage at 0°C.

**Table 2.** Effect of 1-MCP treatment on red flesh colour development (intensity: 1 to 4) in different plum cultivars stored 30 and 50 days at 0°C and exposed to 0, 3 and 7 days of shelf life at 20°C.

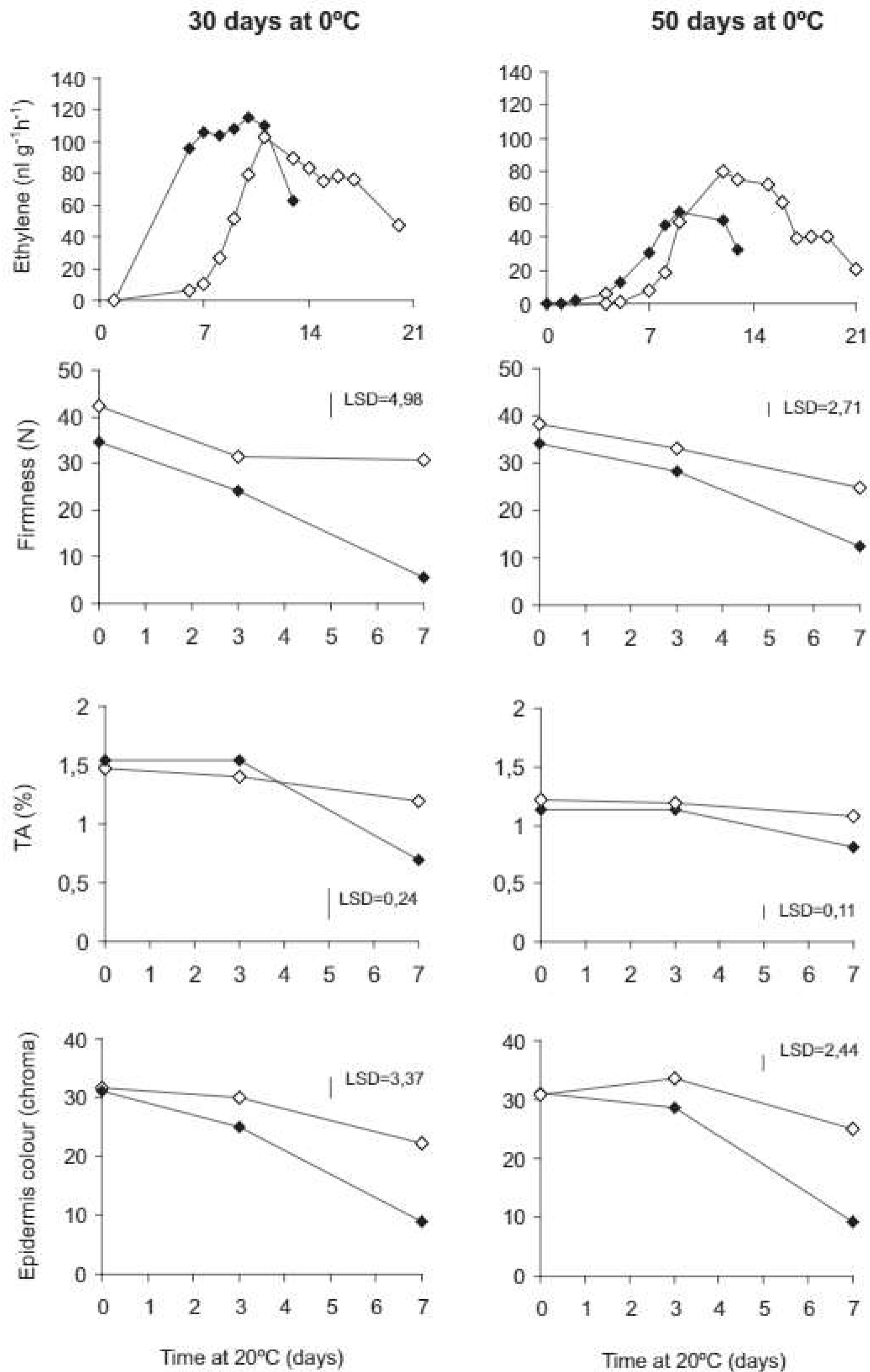
	30 days at 0°C			50 days at 0°C		
	0	3	7	0	3	7
<b>Royal Zee</b>						
Control	1.17 a	1.32 a	1.74 b	1.19 a	1.24 a	1.62 a
1-MCP	1.00 a	1.38 a	1.47 a	1.22 a	1.10 a	1.45 a
<i>P value</i>	0.3739	0.5195	0.0386	0.8296	0.0946	0.1815
<b>Linda Rosa</b>						
Control	1.23 a	1.31 b	3.83 b	1.22 a	1.43 a	2.03 b
1-MCP	1.00 a	1.00 a	1.33 a	1.17 a	1.19 a	1.35 a
<i>P value</i>	0.1836	0.0004	0.0001	0.6639	0.1385	0.0025
<b>Friar</b>						
Control	0	1.50 b	2.21 b	1.07 b	2.20 b	3.03 b
1-MCP	0	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.33 a	0.67 a
<i>P value</i>	-	0.0065	<0.0001	0.0001	0.0141	0.0021

Mean separation was carried out using Tukey's Test (0.05).

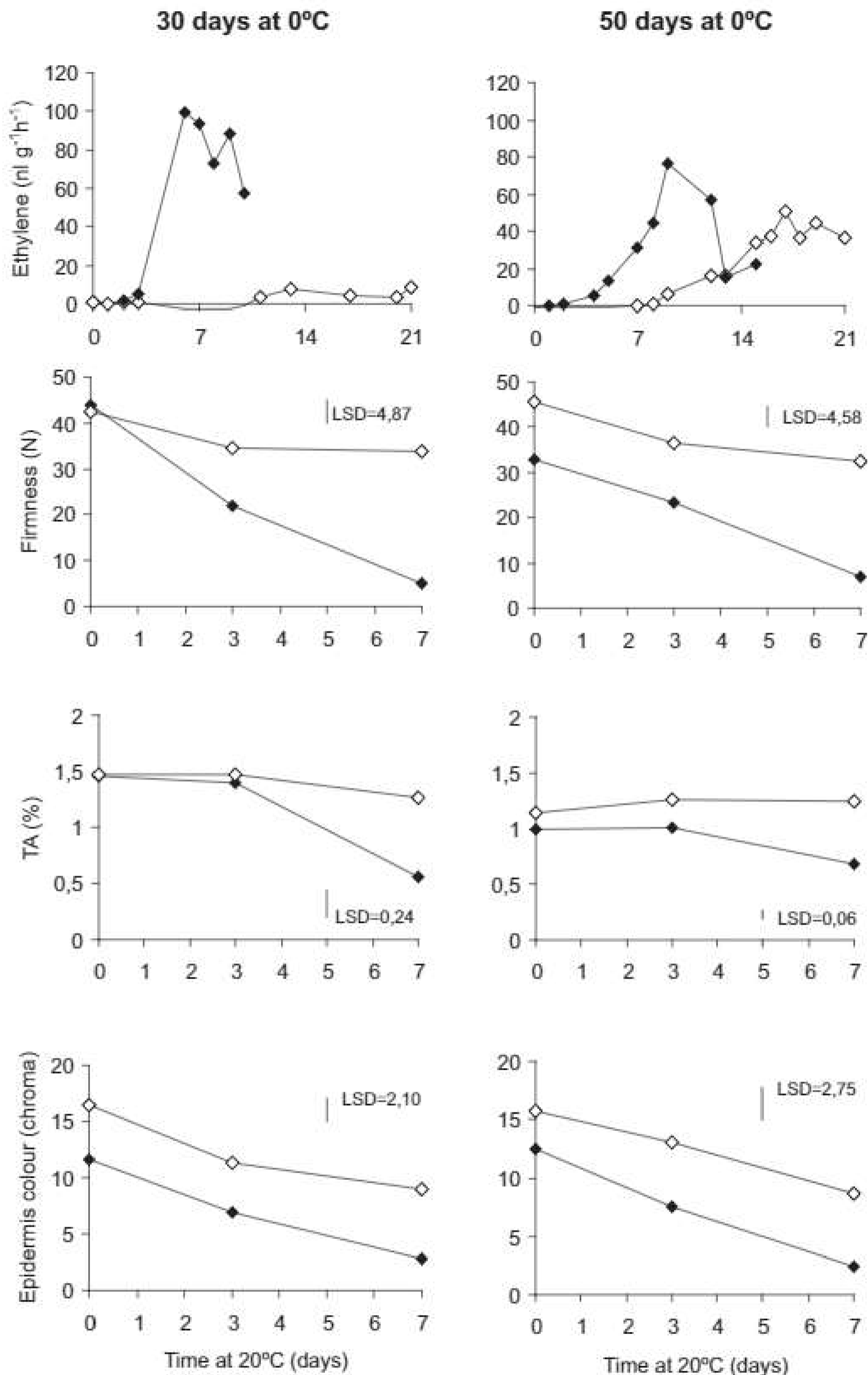


**Figure 1.** Evolution of ethylene production, firmness, titratable acidity and epidermis colour during shelf life at 20°C, after 30 and 50 days of storage at 0°C in control (◆) and 1-MCP-treated 'Royal Zee' (◇) plums. Vertical bars show LSD (Tukey, 0.05) of the set of points presented in each graph.

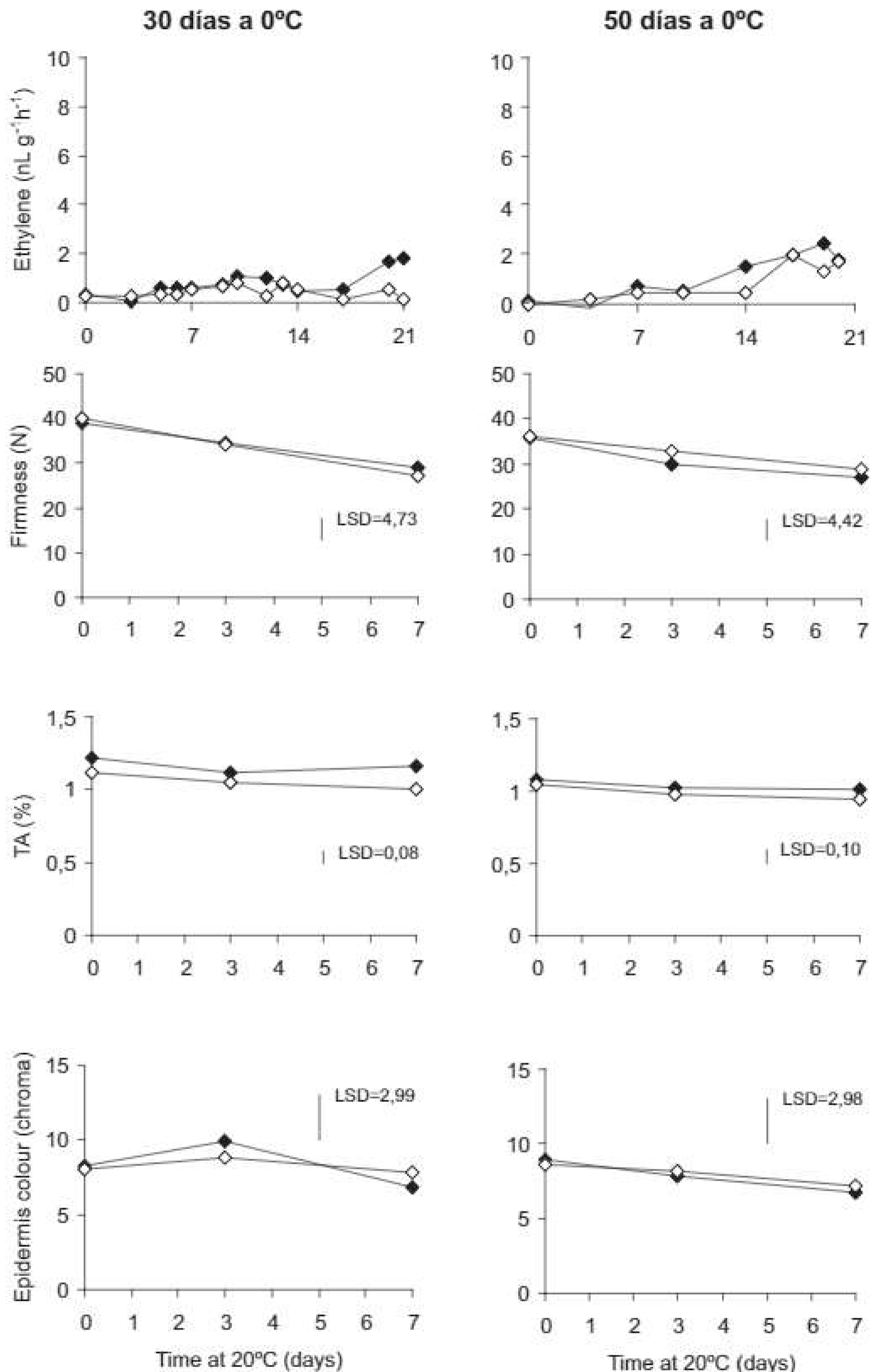




**Figure 2.** Evolution of ethylene production, firmness, titratable acidity and epidermis colour during shelf life at 20°C, after 30 and 50 days of storage at 0°C in control (◆) and 1-MCP-treated (◇) 'Linda Rosa' plums. Vertical bars show LSD (Tukey, 0.05) of the set of points presented in each graph.



**Figure 3.** Evolution of ethylene production, firmness, titratable acidity and epidermis colour during shelf life at 20°C, after 30 and 50 days of storage at 0°C in control (◆) and 1-MCP-treated (◇) 'Friar' plums. Vertical bars show LSD (Tukey, 0.05) of the set of points presented in each graph.

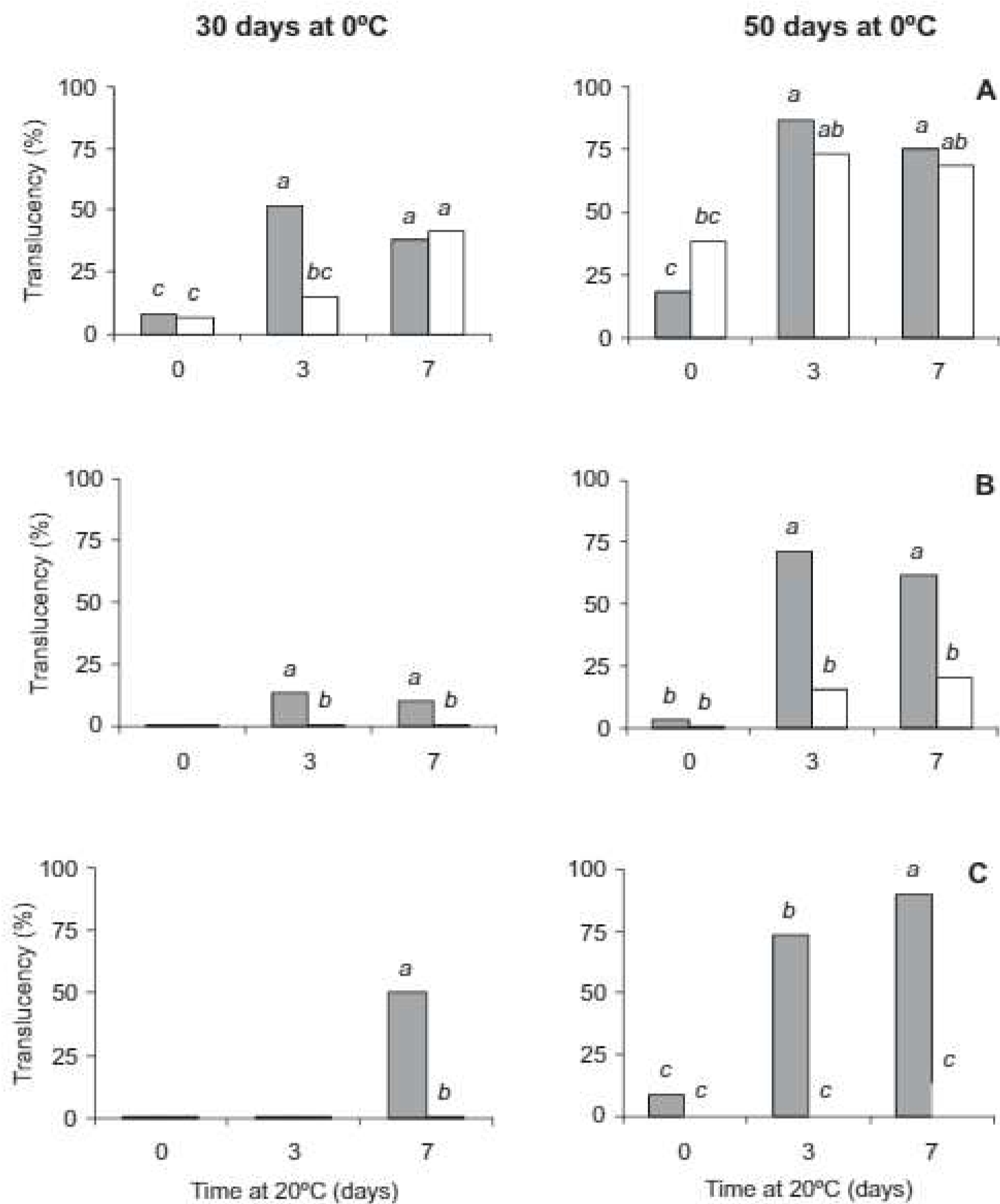


**Figure 4.** Evolution of ethylene production, firmness, titratable acidity and epidermis colour during shelf life at 20°C, after 30 and 50 days of storage at 0°C in control (◆) and 1-MCP-treated (◇) 'Angeleno' plums. Vertical bars show LSD (Tukey, 0.05) of the set of points presented in each graph.

## Effect of cold storage and 1-MCP on chilling injury

Flesh translucency was the most important chilling injury symptom observed in this work. In 'Royal Zee' plums, this symptom was present after 30 days of storage at 0°C both in control fruit and in 1-MCP-treated fruit, and increased as the storage and shelf life was extended but without significant differences between treatments (Figure 5-A). Flesh translucency affected 'Linda Rosa' and 'Friar' control fruits during shelf life especially after 50 days of storage at 0°C (Figures 5-B and 5-C). 1-MCP treatment completely inhibited CI occurrence in both cultivars after 30 days of storage and significantly reduced the percentage of injured fruit even after 7 days of shelf life. No translucency symptoms were observed in the 'Angeleno' plum fruit in all the tests performed even without 1-MCP treatment.

The severity of translucency symptoms was 1.5 and 2 in 'Royal Zee', 0.5 and 2 in 'Linda Rosa' and 1 and 2 in 'Friar' plums at the end of shelf life and following 30 and 50 days of storage, respectively. As observed for percentage of injured fruit, 1-MCP treatment reduced the symptom's severity in 'Linda Rosa' and 'Friar' plums but not in 'Royal Zee' plums (data not included).



**Figure 5.** Percentage of fruit affected by flesh translucency during shelf life at 20°C after 30 and 50 days of storage at 0°C in control fruit (grey bars) and 1-MCP-treated fruit (white bars) of 'Royal Zee' (A), 'Linda Rosa' (B) and 'Friar' (C) plums. Within each graph, points or columns with different letters differ significantly according to the LSD value (Tukey, 0.05).

### Ripening pattern and response to 1-MCP

Plums are traditionally considered as climacteric fruit, but in the last few years suppressed climacteric cultivars have been identified (Abdi et al., 1997). According to this work 'Royal Zee' plums are considered climacteric and show a rapid increase in ethylene production during ripening (Dong et al., 2002). In contrast, 'Angeleno' plums maintained a very low ethylene production throughout the postharvest period, which is in agreement with the observations of Holcroft et al. (2002), who define this cultivar as suppressed climacteric. 'Linda Rosa' and 'Friar' cultivar fruit presented low ethylene production rate after harvest, but a typically climacteric ripening pattern was observed after 30 and 50 days of storage at 0°C. These results suggest that these cultivars need low temperatures to start their climacteric ethylene synthesis, as observed in 'Songold' and 'Larry Ann' cultivars (Taylor et al., 1993; Candan et al., 2008). Such behaviour has also been observed in other species like nectarines (Brecht and Kader, 1984), apples (Larrigaudière et al., 1993, 1997) and pears (Lelièvre et al., 1997).

In the climacteric cultivars, 1-MCP reduced ethylene production and this effect was less significant in 'Royal Zee' than in 'Linda Rosa' plums and than in 'Friar' plums. This suggests that the higher the cultivar's ethylene production rate at harvest, the less significant is its response to 1-MCP treatment. This result was in accordance to those observed by Valero et al. (2005) and showed that the 1-MCP dose required to control ripening in plum should be adjusted to the cultivar (Martínez-Romero et al., 2003). In the case of the suppressed climacteric 'Angeleno' cultivar, 1-MCP treatment affected neither ethylene production nor maturity parameters (such as firmness, TA and epidermis colour). Such a relationship has been observed in other cultivar and it was hypothesized that ripening changes and ethylene production were not related in suppressed climacteric cultivars (Abdi et al., 1997). However, this result must be interpreted with caution, as other authors have observed that 1-MCP treatment reduces softening rates in these types of cultivars (Valero et al., 2005; Menniti et al., 2006).

### Effects of 1-MCP treatment on fruit quality

In general it is recognized that 1-MCP treatment reduced firmness loss in plum (Candan et al., 2006; Dong et al., 2002; Salvador et al., 2003; Argenta et al., 2003; Valero et al., 2005; Martínez-Romero et al., 2003). In accordance with this idea, low

ethylene production in 'Angeleno' fruit coincides with softening rate significantly lower than that observed in the other cultivars studied in this work. This result was observed by other authors (Holcroft et al., 2002) and showed that flesh softening is an ethylene-dependent process (Lelièvre et al., 1997). Softening is known to be associated with the fruit's cell wall degradation process, and it has recently been demonstrated that 1-MCP reduces cell wall-degrading enzymes' activity, helping to maintain the plums' firmness (Khan and Singh, 2007).

'Royal Zee', 'Linda Rosa' and 'Friar' plums lost TA as the fruit's storage and shelf life extended, due to the utilization of organic acids as substrate in tissue respiration. 1-MCP-treated fruit maintained higher TA values, which could be due to a decrease in respiration rates, as observed in other cultivars (Dong et al., 2002; Argenta et al., 2003; Salvador et al., 2003).

On the other hand, many previous studies showed that 1-MCP treatment delays epidermis colour changes in plums (Dong et al., 2002; Salvador et al., 2003) and that such effect is cultivar-dependent (Valero et al., 2005). This work showed 1-MCP treatment delayed the epidermis colour change (chroma) in climacteric cultivars but not affected the colour in the suppressed climacteric cultivar. Besides, 1-MCP treatment significantly reduced red flesh colour development in 'Friar' and 'Linda Rosa' plums, coinciding with observations made in 'Blackamber' (Candan et al., 2006) and 'Laetitia' (Argenta et al., 2003) plums. Nonetheless, Dong et al. (2002) observed that the application of 1-MCP increased the development of red pigments in the flesh of 'Royal Zee' plums, but such behaviour was not observed in this work.

According to firmness values recommended for plum consumption (Neri, 2003), the time needed to ripen varied between 3 and 5 days for 'Royal Zee', and between 5 and 6 days for 'Linda Rosa' and 'Friar'. 1-MCP treatment extended the fruit's shelf life by 4 to 7 days in 'Royal Zee' and more than 7 days in 'Linda Rosa' and 'Friar' similarly than for 'Blackamber' plums (Candan et al., 2006). Besides texture, the plums' organoleptic quality is also closely related to sugar (SSC) and acid (TA) contents (Crisosto et al., 2004). This and other research papers state that 1-MCP treatment does not affect SSC (Dong et al., 2002; Argenta et al., 2003; Salvador et al., 2003; Candan et al., 2006) but maintains higher TA values, which might affect the fruit's final sensory quality. In this work, it was observed that when 'Royal Zee' plums reached their firmness consumption, TA values for the treated-fruit and control-fruit were the same and coincided with those recommended by Crisosto et al. (2007). The same may be expected to occur with the others cultivars studied, but further studies are necessary to affirm it.

## Effect of 1-MCP treatment on chilling injury

According to the findings presented in this work, the percentage of fruit affected by translucency was higher in cultivars that exhibited higher ethylene production rate. In accordance with this idea, the 'Angelino' cultivar fruit that produced low ethylene throughout the entire experimental period did not develop CI symptoms. These results show the relationship that exist between ethylene production and fruit susceptibility to CI and sustains the hypothesis proposed in previous research (Candan et al., 2008). Moreover, 1-MCP treatment significantly reduced the appearance of translucency symptoms and even completely eliminated these symptoms in 'Linda Rosa' and 'Friar' cultivars after 30 days of storage. Similar results were also observed in 'Blackamber' (Candan and Calvo, 2005), 'Larry Ann' (Candan et al., 2008) and 'Fortune' (Menniti et al., 2006) plums.

Collectively, these results support the idea that ethylene participates in the development of chilling injury symptoms in climacteric plums (Candan et al., 2008) and that 1-MCP is a useful tool for chilling injury control in this specie They also suggest that early ripening cultivars might be more susceptible to chilling injury than late ripening cultivars, which coincides with the findings of Abdi et al (1997).



---

## REFERENCES

---

- Abdi, N., Holford, P., Mc Glasson, W.B., Mizrahi, Y., 1997.** *Ripening behaviour and responses to propylene in four cultivars of Japanese type plums. Postharvest Biology and Technology, 12: 21-34.*
- Abdi, N., Mc Glasson, W.B., Holford, P., Williams, M., Mizrahi, Y. 1998.** *Responses of climacteric and suppressed climacteric plums to treatment with propylene and 1-methylcyclopropene. Postharvest Biology and Technology, 14: 29-39.*
- Argenta, L.C., Krammes, J.G., Megguer, C.A., Amarante, C.V., Mattheis, J. 2003.** *Ripening and quality of 'Laetitia' plums following harvest and cold storage as affected by inhibition of ethylene action. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 38 (10): 1139-1148.*
- Brecht, J. K., Kader, A.A. 1984.** *Regulation of ethylene production by ripening nectarine fruit as influenced by ethylene and low temperature. Journal of American Society and Horticultural Science, 109 (6): 869-872.*
- Candan, A.P., Calvo, G. 2005.** *Treatment with 1-MCP may reduce chilling injury in cold stored 'Blackamber' plums. 9th International Controlled Atmosphere Research Conference, East Lansing, Michigan, U.S.A., pp. 29.*
- Candan, A.P.; Graell, J.; Crisosto, C.; Larrigaudière, C. 2006.** *Improvement of storability and shelf life of 'Blackamber' plums treated with 1-methylcyclopropene. Food Science and Technology International, 15 (2): 437-444*
- Candan, A.P.; Graell, J.; Larrigaudière, C. 2008.** *Roles of climacteric ethylene in the development of chilling injury in plums. Postharvest Biology and Technology, 47 (1): 107-112.*
- Crisosto, C.H., Crisosto, G.M., Echeverria, G, Puy, J. 2007.** *Segregation of plum and pluot cultivars according to their organoleptic characteristics. Postharvest Biology and Technology, 44: 271-276.*
- Crisosto, C., Garner, D., Crisosto, G., Bowerman, E. 2004.** *Increasing 'Blackamber' plum (*Prunus salicina* L.) consumer acceptance. Postharvest Biology and Technology, 34: 237-244.*
- Crisosto, C.H., Mitchell F.G., Ju, Z., 1999.** *Susceptibility to chilling injury of peach, nectarine, and plum cultivars grown in California. HortScience, 34: 1116-1118.*

- Dong, L., Lurie, S., Zhou, H. W. 2002.** *Effect of 1-methylcyclopropene on ripening of 'Canino' apricots and 'Royal Zee' plums. Postharvest Biology and Technology, 24: 135-145.*
- Holcroft, D.M., Kruger, L., Cook, N.C. 2002.** *Climacteric and suppressed climacteric ripening patterns in plums: implications for postharvest handling. South African Fruit Journal, Jun/Jul: 14-17*
- Kader, A.A. 1985.** *Ethylene-induced senescence and physiological disorders in harvested horticultural crops. HortScience, 20 (1): 54-57.*
- Khan, A.S., Singh, Z. 2007.** *1-MCP regulates ethylene biosynthesis and fruit softening during ripening of 'Tegan Blue' plum. Postharvest Biology and Technology, 43: 298-306.*
- Larrigaudière, C., Vendrell, M., 1993.** *Cold-induced activation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid metabolism in rewarmed 'Granny Smith' apples: consequences on ripening. Scientia Horticulturae, 55: 263-272.*
- Larrigaudière, C., Graell, J., Salas, J., Vendrell, M., 1997.** *Cultivar differences in the influence of a short period of cold storage on ethylene biosynthesis in apples. Postharvest Biology and Technology, 10: 21-27.*
- Larrigaudière, C., Candan, A.P., Ubach, D., Graell, J. 2009.** *Physiological response of 'Larry Ann' plums to cold storage and 1-MCP treatment. Postharvest Biology and Technology, 51: 56-61.*
- Lelièvre, J.M., Latché, A., Jones, B., Bouzayen, M., Pech, J.C., 1997.** *Ethylene and fruit ripening. Physiologia Plantarum, 101: 727-739.*
- Martínez,-Romero D., Dupille, E., Guillén, F., Valverde, J.M., Serrano, M., Valero, D.J., 2003.** *1-Methylcyclopropene increases storability and shelf life in climacteric and nonclimacteric plums. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51: 4680-4686.*
- Menniti, A.M., Donati, I., Gregori, R. 2006.** *Responses of 1-MCP application in plums stored under air and controlled atmospheres. Postharvest Biology and Technology, 39: 243-246.*
- Neri, F. 2003.** *Influence of maturity stage and ripening on sensory quality of peaches, nectarines and plums. Eufirin Workshop on Fruit Quality. Bologna, 11-14 June, pp: 141-142.*

- Pesis, E., Ackerman, M., Ben-Arie, R., Feygenberg, O., Feng, X., Apelbaum, A., Goren, R., Prusky, D. 2002.** *Ethylene involvement in chilling injury symptoms of avocado during cold storage. Postharvest Biology and Technology, 24: 171-181*
- Selvarajah, S., Bauchot, A.D., John, P. 2001.** *Internal browning in cold-stored pineapples is suppressed by a postharvest application of 1-methylcyclopropene. Postharvest Biology and Technology, 23: 167-170.*
- Salvador, A., Cuquerella, J., Martínez-Jávega, J.M. 2003.** *1-MCP treatment prolongs postharvest life of 'Santa Rosa' plums. Journal of Food Science, 68 (4): 1504-1510.*
- Taylor, M. A., Jacobs, G., Rabe, E., Dodd, M. C. 1993.** *Physiological factors associated with overripeness, internal breakdown and gel breakdown in plums stored at low temperature. Journal of Horticultural Science, 68 (5): 825-830.*
- Valero, D., Guillen, F., Valverde, J.M., Martínez-Romero, D., Castillo, S. 2005.** *1-MCP use in Prunus sp. to maintain fruit quality and extend shelf life during storage: a comparative study. Acta Horticulturae, 682: 933-940.*



## V DISCUSIÓN GENERAL



El objetivo primordial de la presente tesis fue mantener la calidad postcosecha y mejorar la conservación frigorífica de ciruelas japonesas mediante la aplicación de tratamientos con 1-MCP. Además, los trabajos realizados aportan nuevos conocimientos sobre los mecanismos fisiológicos y bioquímicos que participan en el desarrollo de los daños por frío en los frutos de esta especie.

A continuación se hace una discusión conjunta de los resultados obtenidos en cuatro apartados distintos.

## **1 EFECTO DEL 1-MCP SOBRE LA MADURACIÓN POSTCOSECHA DE CIRUELAS JAPONESAS**

---

### **1.1. PRODUCCIÓN DE ETILENO**

---

El tratamiento con 1-MCP retrasó la producción de etileno de los frutos durante el almacenamiento y, principalmente, durante la vida en estante, en todas las variedades de ciruelas climatéricas estudiadas. Los frutos tratados con 1-MCP requirieron más días en iniciar la producción de etileno y en alcanzar el máximo climatérico que los respectivos controles (Capítulos 1,2,3,4,5,6). De manera similar, otros investigadores han observado el efecto inhibidor del 1-MCP sobre la producción de etileno en numerosas variedades de ciruela (Dong et al., 2001a, 2002; Martínez-Romero et al., 2003; Valero et al., 2003, 2005; Salvador et al., 2003a, b). También se ha demostrado que el 1-MCP disminuye la producción de etileno en frutos de otras especies como fresa (Jiang et al., 2001), nectarina (Dong et al., 2001b), melocotón (Liguori et al., 2004), damasco (Fan et al., 2000), kiwi (Boquete et al., 2004), palta (Feng et al., 2000), pera (Larrigaudière et al., 2004, Calvo y Sozzi, 2007) y manzana (Fan et al., 1999; Watkins et al., 2000). Por el contrario, en piña (Selvarajah et al., 2001) y en higo (Sozzi et al., 2005), los frutos tratados produjeron más etileno, indicando que el 1-MCP puede afectar en esos casos al sistema de regulación no climatérico del etileno.

El 1-MCP inhibe la percepción del etileno en los frutos, actuando sobre los receptores específicos del etileno situados en las membranas celulares y compitiendo con el etileno por los sitios de unión (Sisler y Serek, 1999). Se ha demostrado que la actividad de las enzimas que intervienen en la biosíntesis del etileno, la ACO y la ACS, como también la acumulación de los mRNAs asociados, son inhibidas por el 1-MCP en

distintas especies como nectarina (Dong et al., 2001b), melocotón (Mathooko et al., 2001) y palta (Owino et al., 2002). Del mismo modo, el tratamiento con 1-MCP reduce la actividad ACS y ACO y los niveles de ACC en ciruelas 'Tegan Blue' (Khan y Singh, 2007). En esta tesis, y aunque no hemos analizado la actividad de estas enzimas, se puede suponer que el 1-MCP tuvo el mismo efecto.

---

## 1.2. FIRMEZA DE PULPA

---

El ablandamiento excesivo fue el principal factor limitante de la vida postcosecha de las variedades climatéricas estudiadas, lo cual coincide con lo observado por otros autores (Skog et al., 2003; Manganaris et al., 2007).

Si bien la tasa de ablandamiento de los frutos fue relativamente baja durante el almacenamiento a 0°C, la misma se incrementó rápidamente durante el posterior período de maduración a 20°C (Capítulos 1,2,5,6). En general los frutos tratados con 1-MCP mantuvieron mayores valores de firmeza que los frutos control durante el almacenamiento y, sobre todo, durante el posterior período de maduración a 20°C. De esta forma, el tratamiento permitió extender la vida comercial de los frutos en un 50% en ciruelas 'Blackamber' (Capítulo 1), y entre un 25% y 75% en ciruelas 'Larry Ann', dependiendo de la temperatura de almacenamiento y del estado de madurez de los frutos al momento de cosecha (Capítulos 2,6). De forma similar, se ha mostrado en otros trabajos que el tratamiento con 1-MCP también retrasa el ablandamiento en ciruelas 'Red Rosa', 'Royal Zee', 'Santa Rosa', 'Golden Japan', 'President', 'Reina Claudia', 'Angeleno' y 'Fortune', (Dong et al., 2001a, 2002; Martínez-Romero et al., 2003; Valero et al., 2003, 2005; Menniti et al., 2004, 2006; Salvador et al., 2003a, b). Por otra parte, la aplicación de 1-MCP en formulación líquida también fue efectiva en ciruelas 'Harrow Sun' y 'Joanna Red' (Manganaris et al., 2007, 2008a).

El menor ablandamiento en los frutos tratados con 1-MCP se ha relacionado con una menor actividad de las enzimas que participan en la degradación de la pared celular, tales como: EGasa y exoPG en ciruelas 'Red Rosa' (Dong et al., 2001a); la PE, EGasa, exoPG y endoPG en ciruelas 'Tegan Blue' (Khan y Singh, 2007); y la PG, EGasa y  $\beta$ -Gal en ciruelas 'Harrow Sun' (Manganaris et al., 2007).

Se considera que las ciruelas con valores de firmeza entre 26 N y 13 N pueden soportar



la manipulación postcosecha (Crisosto et al., 2001, Valero et al., 2007). Por lo tanto, una de las ventajas de mantener mayores valores de firmeza en los frutos reside en que se puede reducir la sensibilidad de los mismos a los daños mecánicos (Perez-Vicente et al., 2002), que son una de las causas más importantes de pérdida de calidad en frutas de hueso (Amorim et al., 2008). Por otro lado, también es importante que los frutos tratados con 1-MCP recuperen posteriormente su capacidad de madurar ya que la madurez de consumo se alcanza con valores de firmeza entre 8 N y 15 N en ciruelas de pulpa blanda, y entre 15 N y 20 N en ciruelas de pulpa firme (Neri, 2003). En nuestros estudios, los frutos tratados con 1-MCP maduraron normalmente después del almacenamiento pero requirieron entre 3 y 7 días más de vida en estante que los frutos control para alcanzar la firmeza de consumo (Capítulos 1,5,6). Esta extensión de la vida útil en los frutos tratados con 1-MCP es de interés para que la fruta mantenga su calidad durante la etapa de distribución comercial.

---

### **1.3. ACIDEZ TITULABLE Y SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES**

---

Los frutos presentaron una pérdida de acidez titulable (AT) durante el almacenamiento frigorífico y la posterior vida en estante (Capítulos 1,2,5,6). La pérdida de AT durante el almacenamiento en frío ha sido observada también en otras variedades de ciruelas (Salvador et al., 2003a, b; Guerra y Casquero, 2008) y se debe principalmente a una disminución en el contenido de ácido málico (Singh et al., 2009). Al igual que lo observado para la firmeza, la AT fue uno de los parámetros más claramente afectados por el tratamiento con 1-MCP en ciruelas climatéricas. Los frutos tratados mantuvieron mayores valores de AT que los frutos control, incluso en cosechas tardías y después del período de vida en estante (Capítulos 1,2,5,6). En todos los casos, la retención de acidez está seguramente relacionada con una disminución de la tasa respiratoria de los frutos tratados con 1-MCP, tal como fue observado en ciruelas (Martínez-Romero et al., 2003; Salvador et al., 2003a, b) y en otras especies (Blankship y Dole, 2003). En este sentido, los resultados descritos dependen de la variedad (Dong et al., 2001a; Dong et al., 2002; Salvador et al., 2003a; Menniti et al., 2004) y pueden estar relacionadas con diferencias en la tasa respiratoria inicial debidas a la madurez inicial y a factores genéticos.

La mayor acidez de los frutos tratados resulta de importancia por dos razones. En primer lugar, los ácidos orgánicos presentes en el medio celular constituyen un factor de resistencia contra los hongos. Por otro lado, dichos compuestos contribuyen, junto

con otros (como azúcares, polifenoles, vitaminas, etc.) a desarrollar la calidad gustativa y nutricional de los frutos (Herrero y Guardia, 1992). La mayor acidez que se consigue en las ciruelas tratadas con 1-MCP es entonces de interés para su comercialización.

A diferencia de lo observado con respecto al contenido de ácidos, el valor de sólidos solubles totales (SST) se mantuvo constante o fluctuó erráticamente a lo largo de la conservación y vida en estante en todas las variedades estudiadas (Capítulos 1,2,5,6). Estos resultados coinciden con lo observado en otras variedades de ciruelas (Abdi et al., 1997b) y podría explicarse por el hecho de que las ciruelas no acumulan almidón en grandes cantidades durante su fase de crecimiento (Tucker, 1993; Wills et al., 1998). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que, aunque el contenido de SST presente pocas variaciones, la participación de los distintos azúcares individuales como fructosa, glucosa, sacarosa y sorbitol varían a lo largo del almacenamiento (Singh et al., 2009).

Teniendo en cuenta que los azúcares son sustratos respiratorios al igual que los ácidos orgánicos, puede esperarse que el tratamiento con 1-MCP mantenga mayores valores de sólidos solubles. Sin embargo, el contenido de sólidos solubles no se vio significativamente afectado por el tratamiento con 1-MCP (Capítulos 1,2,5,6), indicando que, comparados con los ácidos, los azúcares quizás no son un sustrato importante de la actividad respiratoria en ciruelas. Resultados similares se han mostrado en otras variedades de ciruelas como 'Royal Zee' (Dong et al., 2002), 'Santa Rosa' (Salvador et al., 2003a), 'Red Rosa' (Dong et al., 2001a), 'Fortune' y 'Angeleno' (Menniti et al., 2004) y en otras especies (Blankenship y Dole, 2003).

La relación entre el contenido de sólidos solubles y la acidez titulable es un índice comúnmente utilizado para valorar la calidad gustativa de los frutos. Algunos autores obtuvieron que el tratamiento con 1-MCP retrasó el aumento en la relación SST/AT en ciruelas 'Santa Rosa', 'Golden Japan' y 'Presidente' (Martínez-Romero et al., 2003, Valero et al., 2003). Según los resultados obtenidos en la presente tesis, el contenido de AT y de SST al momento de alcanzar la firmeza para consumo fue similar en los frutos control y en los frutos tratados con 1-MCP.

---

#### **1.4. COLOR DE LA EPIDERMIS Y DE LA PULPA**

---

El color de la epidermis de las ciruelas cambió tanto durante el almacenamiento como en la posterior vida en estante. En general, el croma fue el parámetro colorimétrico que mejor reflejó los cambios de coloración durante la vida en estante de los frutos

(Capítulos 1,2,6,). El tratamiento con 1-MCP retrasó el cambio del color de la epidermis en las variedades climatéricas estudiadas (Capítulo 6). Numerosos antecedentes bibliográficos sostienen que el tratamiento con 1-MCP retrasa los cambios en el color de la epidermis de las ciruelas (Dong et al., 2002; Valero et al., 2003; Salvador et al., 2003a, b) y que este efecto es dependiente de la variedad (Skog et al., 2001, 2003). Además, Lee y Lee (1980) observaron que la aplicación de etileno exógeno estimula el desarrollo de antocianinas en ciruelas 'Santa Rosa'. Estos resultados sugieren que el desarrollo de color es dependiente de etileno en las ciruelas climatéricas.

Las ciruelas también desarrollan color rojo en la pulpa (*reddening*), lo cual en ocasiones ha sido considerado un síntoma de daño por frío (Crisosto et al., 1999). Sin embargo, el contenido de antocianinas en la pulpa no varía durante el almacenamiento a 3°C pero se incrementa en fruta almacenada a 20 o 30°C (Tsuji et al., 1983), sugiriendo ello que los cambios de color de la pulpa están relacionados con el proceso normal de maduración del fruto (Dong et al., 2002). Los resultados obtenidos en esta tesis soportan esta idea y muestran que el incremento de color rojo en la pulpa es dependiente de etileno y puede ser reducido con un tratamiento con 1-MCP (Capítulos, 1,2,6). Estos resultados coinciden con lo observado en ciruelas 'Royal Diamond', en las cuales el desarrollo de color rojo en la pulpa se incrementó en presencia de etileno en la atmósfera de almacenamiento (Manganaris et al., 2008b).

## **2 EFECTO DEL 1-MCP SOBRE EL DESARROLLO DE LOS DAÑOS POR FRÍO EN CIRUELAS JAPONESAS**

El etileno ha sido relacionado con el desarrollo o agravamiento de desórdenes fisiológicos asociados a los daños por frío como escaldadura superficial en peras y manzanas (Kader, 1985; Bower et al., 2003), el pardeamiento interno en manzanas y paltas (Pesis et al., 2002; Woolf et al., 2005), el pardeamiento en piña (Selvarajah et al., 2001), el '*pitting*' en cítricos (Porat et al., 1999) y en melones (Ben-Amor et al., 1999) y el '*russet spotting*' en lechuga (Hyodo et al., 1978; Reid, 2002). El efecto del 1-MCP sobre estos desórdenes es variable y depende de la especie (Blankeship y Dole, 2003). En general, la aplicación de 1-MCP inhibe la producción de etileno reduciendo así la manifestación de diversos desórdenes asociados con la senescencia. Además, el desarrollo de desórdenes relacionados con los daños por frío también se previene

cuando se reduce la producción de etileno mediante la aplicación de 1-MCP (Watkins, 2006).

La transparencia de la pulpa fue el síntoma de daño por frío más frecuentemente observado en todas las variedades de ciruelas estudiadas en esta tesis y se manifestó entre los 30 y 40 días de almacenamiento a 0°C, principalmente después de un período posterior de maduración a 20°C (Capítulos 1,2,3,5,6). El tratamiento con 1-MCP redujo el porcentaje de frutos afectados por transparencia en todas las variedades de ciruelas climatéricas estudiadas (Capítulos 2,6). Además, los frutos tratados presentaron una menor severidad de síntomas. El tratamiento con 1-MCP permitió un control absoluto de los daños hasta los 30 días de almacenamiento a 0°C en ciruelas 'Linda Rosa' y 'Friar' (Capítulo 5) y hasta los 40 días de almacenamiento a 0°C en ciruelas 'Larry Ann' (Capítulo 3). El efecto del 1-MCP sobre el desarrollo de daños por frío en ciruelas ha sido poco estudiado y hasta la fecha solo algunos autores mencionan que dicho tratamiento redujo la incidencia de pardeamiento en ciruelas 'Blackamber' (Candan y Calvo, 2005) o 'Fortune' (Menniti et al., 2004).

Es importante destacar que la incidencia de transparencia después de un periodo de conservación prolongado fue mayor en ciruelas 'Royal Zee' que en 'Linda Rosa', y en ésta que en 'Friar' o 'Larry Ann', y fue prácticamente nula en el cultivar climatérico suprimido 'Angeleno' (Capítulos 3,6). Estos resultados muestran que la sensibilidad a los daños por frío está fuertemente influenciada por las características genéticas de cada cultivar (Abdi et al., 1997a; Crisosto et al., 1999) y son una primera evidencia de que el desarrollo de daños por frío está ligado al comportamiento climatérico de la variedad. Estos resultados sugieren también que la aplicación de 1-MCP es particularmente conveniente en las variedades de tipo climatérico en las cuales, además del control de la maduración se lograría una reducción de los daños por frío (Capítulos 3 y 6).

Se mostró también en esta tesis, que los frutos de cosechas tempranas u óptimas son más propensos a manifestar síntomas de transparencia que los frutos de cosechas tardías (Capítulos 2 y 5). Aún así, la aplicación postcosecha de 1-MCP resultó efectiva en reducir el porcentaje de frutos afectados con transparencia en ciruelas 'Larry Ann' de cosechas tempranas (Capítulo 2). Si bien existen otros antecedentes que indican que los frutos de ciruelas provenientes de cosechas tempranas son más sensibles a los daños por frío (Hartmann et al., 1988; Plich, 1999), otros autores proponen que la fruta inmadura es menos sensible debido al menor contenido de pectinas solubles y formación de geles

intercelulares (Taylor et al., 1995). A pesar de esto, la relación entre la sensibilidad a los daños por frío y la madurez de los frutos al momento de cosecha continúa siendo poco clara.

Debe considerarse que la eficiencia del tratamiento con 1-MCP sobre el control de los daños por frío depende también sensiblemente del momento de aplicación. En esta tesis se mostró que la aplicación de 1-MCP después de 50 días de almacenamiento a 0°C no fue efectiva en reducir la manifestación de transparencia en ciruelas 'Larry Ann' (Capítulo 5). Estos resultados coinciden con lo observado en peras (Mitcham et al., 2001) y manzanas (Jung y Watkins, 2008), donde la demora en la aplicación del 1-MCP redujo significativamente el control de la escaldadura superficial.

Por último, la incidencia de daños por frío fue variable entre una temporada y otra, y resultó significativamente mayor en la temporada 2005, observándose hasta un 100% de los frutos control con síntomas durante la vida en estante posterior a los 60 días de almacenamiento a 0°C (Capítulo 3). Este resultado confirma que la sensibilidad de los frutos a los daños por frío no solo depende de las condiciones de almacenamiento postcosecha sino que está afectada por factores de precosecha. Aunque los factores precosecha no han sido objeto de estudio en esta tesis, está demostrado que la sensibilidad a los daños por frío en frutos de hueso depende de la nutrición mineral (Eksteen, 1982; Dodd, 1984), el tamaño de los frutos (Crisosto et al., 1997a), el riego y la carga del árbol (Crisosto et al., 1997b), la disponibilidad de luz (Kruger et al., 2005) y la posición de la fruta en el árbol (Taylor et al., 1993a), entre otros.

### **3 FISIOLOGÍA DE LOS DAÑOS POR FRÍO**

Una de las teorías más aceptadas para explicar la ocurrencia de los daños por frío propone la existencia de un 'evento inicial' que induce cambios en la estructura y permeabilidad de las membranas celulares y provoca una serie de 'eventos secundarios' a nivel del metabolismo de los frutos resultando en el desarrollo de los síntomas (Lyons, 1973). Este modelo es aplicable al desarrollo de daños por frío en ciruelas observado en esta tesis, en la cual se han identificado una serie de cambios producidos después de cortos períodos de almacenamiento a bajas temperaturas que determinan la posterior manifestación de los síntomas de transparencia.

---

### 3.1. EL PAPEL DEL ETILENO

---

Nuestros resultados sugieren que la presencia de etileno es necesaria para que las ciruelas manifiesten síntomas de transparencia. Así se ha demostrado que el desarrollo de transparencia en la variedad climatérica 'Larry Ann' se asocia a un incremento en su capacidad de producir etileno después de salida de cámara. En cambio, este comportamiento no fue observado ni en la variedad climatérica suprimida ni tampoco cuando la variedad climatérica fue tratada con 1-MCP (Capítulo 3). Sumado a ello, se demostró que la aplicación de etileno exógeno favoreció el desarrollo de síntomas en variedades climatéricas suprimidas como 'Angeleno' (Capítulo 3). Por otro lado, también pudo observarse que, dentro de las variedades climatéricas, la incidencia de transparencia es mayor cuanto mayor es la tasa de producción de etileno de la variedad (Capítulo 6). En conjunto, estos resultados sugieren que el etileno juega un papel importante en el desarrollo de síntomas de transparencia en ciruelas. De acuerdo con el modelo de Lyons citado anteriormente, se puede considerar que el evento primario en ciruelas, corresponde a una inducción de la capacidad climatérica del fruto expuesto al frío. El tratamiento con 1-MCP resulta efectivo en reducir la ocurrencia de este evento primario y por lo tanto la posterior manifestación de los síntomas de daños por frío en ciruelas (Capítulos 3 y 6).

El etileno también juega un papel fundamental en la sensibilidad de los melones a los daños por frío (Ben-Amor et al., 1999), en los cuales se ha propuesto que actúa junto con las bajas temperaturas induciendo las vías metabólicas que participan en el desarrollo de este desorden (Jones et al., 2001).

Existen otros antecedentes que relacionan la presencia de etileno con el desarrollo de daños por frío en ciruelas. Por ejemplo, se observaron menos daños por frío en ciruelas 'Friar' expuestas a tratamientos térmicos que incrementaron el contenido de poliaminas y redujeron la producción de etileno (Abu-Kpawoh et al., 2002). Sin embargo, también debe tenerse en cuenta que aunque las poliaminas reducen la producción de etileno en ciruelas (Xiao Ling et al., 1995; Serrano et al., 2003; Khan et al., 2007) su efecto reductor de los daños por frío es también debido a que estabilizan la bicapa lipídica y evitan el deterioro de las membranas celulares (Serrano et al., 1996). Se ha comprobado recientemente que la aplicación de óxido nítrico reduce la producción de etileno en duraznos (Flores et al., 2008), por lo cual podría ser una alternativa más para el control de los daños por frío.

---

### 3.2. EFECTO DE LAS BAJAS TEMPERATURAS SOBRE EL METABOLISMO DEL ETILENO

---

Después de un breve período de exposición a 0°C (de entre 3 y 14 días), las ciruelas 'Larry Ann' experimentaron una activación de su comportamiento climatérico, que se manifestó como un incremento del valor máximo de producción de etileno durante el período de maduración posterior al almacenamiento (Capítulo 3). Resultados similares han sido previamente observados en manzanas (Larrigaudière y Vendrell, 1993; Larrigaudière et al., 1997) y peras (Mitcham y Mitchell, 2002).

El efecto estimulador de las bajas temperaturas en el subsiguiente incremento de la producción de etileno a 20°C es seguramente el resultado de un aumento en la actividad de la ACS (Brecht y Kader, 1984), lo cual favorece la acumulación de ACC. La disminución de la capacidad de malonilación del ACC en MACC, parece también tener un papel importante en la regulación de los niveles de ACC en ciruela. De acuerdo con los resultados obtenidos en esta tesis, existe una inhibición completa de la capacidad de malonilación después de 3 días de permanencia en frío (Capítulo 4). Dicha inhibición explica en parte la acumulación de ACC que se produce durante el almacenamiento en frío, y la posterior inducción del proceso climatérico a 20°C asociado al desarrollo de daños por frío en ciruelas 'Larry Ann' (Capítulo 3).

A pesar de la escasa información acerca del funcionamiento de la N-maloniltransferasa en frutos, se ha definido que su actividad es óptima entre los 40°C y 50°C (Guo et al., 1992, Benichou et al., 1995; Chick y Leung, 1997) y que decrece dramáticamente cuando la temperatura es mayor a 55°C o menor a 35°C (Guo et al., 1992). Estos datos explicarían en parte, el menor contenido de MACC que presentan las ciruelas 'Larry Ann' a 0°C, respecto de las mantenidas a 20°C (Capítulo 4).

El tratamiento con 1-MCP tiene un efecto totalmente opuesto, ya que previene la acumulación de ACC en ciruelas 'Larry Ann' expuestas a bajas temperaturas (Capítulo 4), debido seguramente a una inhibición de la actividad ACS, tal como ha sido demostrado en ciruelas de esta misma variedad (Khan y Singh, 2007), en ciruelas 'Red Rosa' (Dong et al., 2001a) y en otras especies como banana (Pathak et al., 2003) y manzana (Vilaplana et al., 2007). Además, y considerando que las ciruelas tratadas con 1-MCP acumulan también altos niveles de MACC (Capítulo 4), se puede pensar que la limitación de los niveles de ACC en esta fruta es también debida a la mayor malonilación. Similar resultado se observó también en manzanas 'Golden Smothee' (Vilaplana et al., 2007). Ambos son de interés y muestran que la actividad N-malonil transferasa no está directamente ligada a la cadena de señalización del etileno, pero otros trabajos son necesarios para entender mejor este sistema de regulación. Estos

serán de gran ayuda para entender mejor la fisiología de las ciruelas en frío y los factores que controlan los daños por frío en esta especie.

---

### **3.3. EFECTO DE LAS BAJAS TEMPERATURAS SOBRE LAS MEMBRANAS CELULARES**

---

Taylor et al. (1994) encontraron una correlación positiva entre la conductividad interna de los tejidos del fruto y la aparición de síntomas de transparencia en ciruelas 'Songold', sugiriendo que la pérdida de la integridad de la membrana celular está relacionada con la aparición de este síntoma. Por otra parte, el aumento en la permeabilidad de las membranas está asociado con los procesos normales de maduración y senescencia de los frutos (Marangoni et al., 1996).

Los resultados obtenidos en esta tesis demuestran que las ciruelas 'Larry Ann' manifestaron un incremento en la pérdida de iones después de un corto período de exposición a bajas temperaturas (Capítulo 3). Este cambio en la permeabilidad de las membranas no fue observado en los frutos de ciruelas cuando los mismos se trataron con 1-MCP ni en los correspondientes a la variedad climatérica suprimida 'Angeleno' (Capítulo 3). Todos estos resultados sugieren que el aumento en la producción de etileno provocado por la exposición a las bajas temperaturas, podría estar incrementando la sensibilidad a los daños por frío por vía indirecta, mediante su participación en la degradación de las membranas celulares.

---

### **3.4. EFECTO DE LAS BAJAS TEMPERATURAS SOBRE EL METABOLISMO OXIDATIVO**

---

Debido a que la presencia de radicales libres se asocia a desórdenes de la membrana celular y daños por frío (Purvis y Shewfet, 1993; Marangoni et al., 1996), el metabolismo oxidativo también fue estudiado en el marco de esta tesis (Capítulo 4).

Las especies activas de oxígeno (EAO), tales como el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), el radical superóxido ( $O\bullet_2$ ) y los radicales hidroxilos ( $OH\cdot$ ), producen inactivación de enzimas y causan daños celulares. El aumento en la producción de EAO es considerado una respuesta universal a las condiciones de estrés (Foyer et al., 1994). La enzima superóxido dismutasa (SOD) protege a las células de la acción de los aniones superóxido, catalizando su dismutación y produciendo  $H_2O_2$  y oxígeno molecular ( $O_2$ ). El  $H_2O_2$  también es potencialmente dañino, pero puede ser metabolizado a agua por



enzimas como la catalasa (CAT) y peroxidasa (POX). Se sabe que la actividad de estas enzimas se incrementa bajo condiciones de estrés (Foyer et al., 1994; Scöener y Krause, 1990; Jahnke et al., 1991).

En esta tesis, se observó un incremento inmediato en la actividad de la enzima POX en frutos de ciruelas 'Larry Ann' expuestos a 0°C. Este incremento no se observó en los frutos almacenados a 20°C, lo cual sugiere que las bajas temperaturas provocaron un estrés en los frutos (Capítulo 4). Otros autores también observaron este incremento de la POX en frío y la relacionaron con el desarrollo de daños por frío en zapallo (Wang, 1995), mango (Zauberman et al., 1988) y palta (Van Lelyveld y Bower, 1984).

El tratamiento con 1-MCP previno el incremento en la actividad de la enzima POX observado a 0°C (Capítulo 4). Este resultado sugiere que el tratamiento con 1-MCP disminuye la capacidad de los frutos de responder al estrés por frío, pero también que la regulación de la enzima POX en ciruelas expuestas al frío depende del etileno y puede ser regulado por el 1-MCP. Resultados similares han sido previamente observados en palta (Hershkovitz et al., 2005), durazno (Liu et al., 2005) y lechuga (Ke y Saltveit, 1989). En general, se asocia un incremento de la actividad POX con un incremento en la lignificación y el engrosamiento de la pared celular, una de las características de las células afectadas con daños por frío (*'russet spotting'*) en lechuga (Ke y Saltveit, 1989). El incremento en la actividad POX observado en ciruelas 'Larry Ann' almacenadas a 0°C (Capítulo 5) podría estar produciendo un efecto similar ya que el engrosamiento de la pared celular también es una característica de los tejidos afectados por transparencia en ciruelas 'Songold' (Taylor et al., 1993b).

Por otra parte, la exposición de ciruelas 'Larry Ann' a bajas temperaturas no afectó a la actividad de las enzimas SOD y CAT ni al contenido de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Capítulo 4). El hecho de que los frutos control mantuvieran un bajo contenido de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> durante el almacenamiento a 0°C podría deberse a la rápida degradación del mismo por la enzima POX, la cual presentó una elevada actividad en estos frutos, tal como fue como fue descrito anteriormente.

#### **4 FACTORES QUE AFECTAN LA RESPUESTA DE LAS CIRUELAS JAPONESAS AL TRATAMIENTO CON 1-MCP**

La respuesta de los frutos al tratamiento con 1-MCP no dependió directamente de la producción de etileno de los frutos en el momento de la cosecha (la cual fue indetectable en todos los casos), sino más bien de la capacidad de los frutos para

producir nuevos receptores y recuperar la sensibilidad al etileno. Este proceso ocurrió más rápidamente en los frutos de cosechas tardías que en los de cosechas tempranas, y en los frutos almacenados a 5°C que en los almacenados a 0°C (Capítulo 2). Ocurrió también más rápidamente en las variedades con mayor tasa de producción de etileno y cuanto mayor resultó la demora entre la cosecha y la aplicación del tratamiento con 1-MCP (Capítulo 6).

---

#### **4.1. ESTADO DE MADUREZ DE LOS FRUTOS EN EL MOMENTO DE LA COSECHA**

---

Se sabe que la efectividad del tratamiento con 1-MCP depende de la madurez de la fruta al momento de cosecha (Blankeship y Dole, 2003). En esta tesis, la eficiencia del tratamiento con 1-MCP fue menor en frutos cosechados en un estado de madurez más avanzado (Capítulos 2 y 5), tal como fue previamente observado en damascos (Fan et al., 2000), bananas (Harris et al., 2000), peras (Calvo, 2003; 2004) y manzanas (Mir et al., 2001; Calvo 2002). A pesar de ello, el tratamiento con 1-MCP permitió extender la vida postcosecha de ciruelas 'Larry Ann' de cosechas tardías (Capítulos 2 y 5), al igual que fue observado en manzanas 'Red Delicious' (Calvo, 2002), tomates (Hoerberichts et al., 2002; Guillén et al., 2006), duraznos y nectarines (Liguori et al., 2004), peras (Calvo, 2003) y en ciruelas 'Presidente' (Valero et al., 2003) y 'Joanna Red' (Manganaris et al., 2008a).

Similarmente a lo observado en bananas (Harris et al., 2000), las ciruelas 'Larry Ann' cosechadas más maduras tuvieron una vida comercial más breve, con lo cual el tratamiento con 1-MCP resultó en un mayor beneficio relativo (Capítulo 2). Desde el punto de vista comercial, es muy importante que el tratamiento con 1-MCP permita mantener la calidad de las ciruelas cosechadas con un estado de madurez avanzado ya que esto permite tanto flexibilizar la cosecha como así también incrementar los rendimientos por hectárea y la calidad organoléptica de los frutos.

La reducción de la eficiencia del tratamiento en frutos de cosechas tardías podría deberse a que éstos recuperan la sensibilidad al etileno en menos tiempo que los frutos cosechados más inmaduros (Capítulo 2). Se puede pensar que los frutos cosechados más maduros presentan un mayor número de receptores al momento de la aplicación, por lo que la dosis aplicada podría resultar insuficiente. Por este motivo, algunos autores proponen que los frutos con alta tasa de producción de etileno o cosechados con un estado de madurez más avanzado deben ser tratados con dosis mayores de 1-MCP (Calvo, 2003), o bien deben recibir una segunda aplicación (Dong et al., 2002; Ekman et al., 2004).

---

## 4.2. PATRÓN DE MADURACIÓN DE LA VARIEDAD

---

La respuesta de los frutos al tratamiento con 1-MCP dependió del patrón de maduración observado en cada variedad (Capítulos 3 y 6). La producción de etileno en el día de la cosecha fue indetectable para todas las variedades de ciruelas estudiadas en esta tesis, incluso en los frutos de cosechas tardías (Capítulos 1,2,5,6). Esta baja producción del etileno inmediatamente después de la cosecha se atribuye a una causa conocida como 'factor árbol' y ha sido previamente observado en ciruelas (González et al., 1980; Abdi et al., 1997b).

El patrón de maduración de las ciruelas afectó a la respuesta de los frutos al tratamiento con 1-MCP. Las ciruelas climatéricas presentaron una elevada tasa de producción de etileno y, consecuentemente, una mayor tasa de ablandamiento y sensibilidad a los daños por frío. En estas variedades, el tratamiento con 1-MCP retrasó y redujo significativamente la producción de etileno y el proceso de maduración, prolongando así la vida postcosecha de las mismas (Capítulos 1,2,6). Además, se comprobó que los efectos y beneficios del tratamiento con 1-MCP también varían entre las distintas variedades climatéricas (Capítulo 6). Por este motivo, la dosis de 1-MCP a aplicar en ciruelas deberá ajustarse en función de la tasa de producción de etileno de cada cultivar, tal como fue propuesto por Valero et al. (2003).

En la presente tesis, la variedad climatérica suprimida presentó una baja producción de etileno, por lo que su vida de almacenamiento fue superior a la de las otras variedades, tanto en los frutos control como en los tratados con 1-MCP. El tratamiento con 1-MCP no afectó la producción de etileno ni el proceso de maduración, por lo cual dicho tratamiento no sería de interés comercial en este tipo de variedades (Capítulo 3,6). Sin embargo, Menniti et al. (2004; 2006) encontraron que la aplicación de 1-MCP en la misma variedad cosechada con valores de firmeza similares, redujo el ablandamiento y los cambios de color de la epidermis a partir de los 7 días de vida en estante. Esta disparidad de resultados sugiere que las condiciones de cultivo podrían también afectar sensiblemente la respuesta de los frutos al tratamiento con 1-MCP.

---

## 4.3. TIEMPO ENTRE LA COSECHA Y LA APLICACIÓN

---

La eficiencia del tratamiento con 1-MCP se reduce a medida que se demora su aplicación (Blankeship y Dole, 2003, Watkins, 2006). Esto no se observó en ciruelas 'Larry Ann' (Capítulo 5) en la cual una aplicación de  $0.80 \mu\text{L L}^{-1}$  después de 50 días de almacenamiento a  $0^{\circ}\text{C}$  fue tan efectiva como una aplicación de  $0.40 \mu\text{L L}^{-1}$  de 1-MCP

en el día de la cosecha para reducir la producción de etileno y mantener la firmeza durante la posterior vida en estante. Resultados similares fueron obtenidos al aplicar  $0.80\mu\text{L L}^{-1}$  después de 20 días de almacenamiento a  $0^{\circ}\text{C}$  en diferentes lotes de ciruelas de la misma variedad (Candan y Calvo, 2009). Estos resultados muestran que las ciruelas responden favorablemente al tratamiento con 1-MCP aún cuando el mismo se aplique después de un período de almacenamiento a  $0^{\circ}\text{C}$ . Sin embargo, se tiene que considerar la madurez inicial de los frutos y la dosis a aplicar (Capítulo 5). En esta tesis, la dosis aplicada en los tratamientos post-almacenamiento fue el doble de la dosis aplicada inmediatamente después de la cosecha (Capítulo 5). Dong et al. (2002) también observaron que la respuesta de damascos 'Canino' a un tratamiento post-almacenamiento con 1-MCP fue dependiente de la dosis, siendo necesario aplicar al menos  $1\mu\text{L L}^{-1}$ . Sin embargo, esta respuesta también varía en función de la especie, ya que la aplicación de dosis altas de 1-MCP después de 30 días de almacenamiento no fue efectiva en peras 'Williams' (Calvo, 2003).

La aplicación de 1-MCP después de 50 días de almacenamiento a  $0^{\circ}\text{C}$  no fue efectiva en reducir la manifestación de transparencia en ciruelas 'Larry Ann' (Capítulo 5). Este resultado confirma la hipótesis de que el control de los daños por frío con 1-MCP reside en la reducción de los efectos producidos durante el evento inicial (tras cortos períodos de almacenamiento). De esta forma, el 1-MCP constituye una herramienta eficaz para prevenir el desarrollo de transparencia cuando es aplicada a tiempo, es decir, antes de la ocurrencia del evento inicial. Asimismo, este resultado indica que los tratamientos post-almacenamiento con 1-MCP serían más recomendables en variedades de ciruela con baja sensibilidad a los daños por frío. Este resultado es de gran interés comercial porque la aplicación de 1-MCP después de un período de almacenamiento frigorífico permitiría:

- lograr un mayor volumen de fruta, ya que se contaría con más tiempo para llenar la cámara en la cual realizar el tratamiento;
- aumentar la eficiencia del tratamiento, ya que el mismo podría realizarse posteriormente al proceso de selección y clasificación de la fruta, permitiendo tratar solo fruta de calidad superior;
- facilitar la logística de aplicación, ya que el tratamiento podría realizarse en los camiones o containers refrigerados (que cumplan con las condiciones de hermeticidad) antes del envío, durante el transporte o incluso al llegar a destino;
- extender las posibilidades de venta, ya que podría extender la vida comercial de frutos que quedaron sin ser vendidos por un periodo superior al planificado;
- flexibilizar la toma de decisiones, ya que podría definirse si tratar o no a la fruta, una vez que ya se conoce el mercado de destino y los precios del producto.

---

#### 4.4. TEMPERATURA Y DURACIÓN DEL ALMACENAMIENTO

---

El efecto del tratamiento con 1-MCP en las variedades climatéricas dependió de la temperatura y duración del almacenamiento (Capítulo 2). Este efecto fue menor en frutos almacenados a 5°C que en frutos almacenados a 0°C. Estas diferencias se debieron principalmente a que los frutos almacenados a 5°C produjeron etileno mientras que a 0°C la producción de etileno estuvo completamente inhibida (Capítulo 2). A pesar de ello, los frutos de cosechas tempranas pudieron mantener la calidad comercial durante 30 días de almacenamiento a 5°C pero sólo cuando fueron tratados con 1-MCP, mientras que los frutos control presentaban síntomas de sobremadurez (Capítulo 2). De acuerdo con este resultado, los frutos tratados podrían almacenarse a temperaturas superiores a las tradicionalmente indicadas, lo cual permitiría: a) reducir significativamente el consumo de energía durante el almacenamiento refrigerado, y b) almacenar los frutos por encima de las temperaturas de riesgo para la ocurrencia de daños por frío.

Tal como se ha comentado para los frutos de cosechas tardías, la reducción de la efectividad del tratamiento con 1-MCP a 5°C, podría deberse a que los frutos fueron capaces de sintetizar nuevos receptores e iniciar la síntesis autocatalítica de etileno más rápidamente que a 0°C. En este sentido se puede señalar que hay antecedentes que indican que la síntesis de nuevos sitios receptores es mayor a 25°C que a 12°C (Cameron y Reid, 2001) y que los tratamientos con altas temperaturas favorecen la síntesis de nuevos receptores en bananas (Jiang et al., 2002).

Al igual que en peras (Mitcham et al., 2001), las ciruelas tratadas con 1-MCP necesitan ser almacenadas por un periodo de tiempo lo suficientemente prolongado para recuperar su capacidad de maduración. Este es un aspecto muy importante a tener en cuenta desde el punto de vista comercial, ya que una vez tratados, los frutos no podrán ser ofrecidos para su consumo hasta después de un determinado periodo de tiempo.

En nuestros ensayos, se observó una reducción del efecto inhibitorio del 1-MCP sobre la producción de etileno a medida que se prolongó el almacenamiento, lo cual permitió que los frutos tratados alcanzaran la madurez de consumo. De acuerdo con los resultados obtenidos en esta tesis, las ciruelas 'Blackamber' tratadas con 1-MCP requirieron más de 15 días de almacenamiento a 0°C para madurar normalmente, siendo necesarios 30 días a 0°C en frutos tratados con 0,15  $\mu\text{L L}^{-1}$  y 0,30  $\mu\text{L L}^{-1}$  y más de 30 días en frutos tratados con 0,60  $\mu\text{L L}^{-1}$  (Capítulo 1). En general, las ciruelas 'Larry

Ann' tratadas con  $0,40\mu\text{L L}^{-1}$  maduraron normalmente a partir de los 30 días de almacenamiento a  $0^{\circ}\text{C}$  (Capítulos 2 y 5), al igual que las ciruelas 'Royal Zee', con la diferencia de que estas últimas lo hicieron con menos tiempo de vida en estante. Finalmente, las ciruelas 'Friar' y 'Linda Rosa' tratadas con  $0,40\mu\text{L L}^{-1}$  requirieron más de 50 días de almacenamiento a  $0^{\circ}\text{C}$  para alcanzar la madurez de consumo después de 7 días de vida en estante (Capítulo 6).

## 5 REFERENCES

- Abdi, N., Holford, P., Mc Glasson, W.B., 1997a.** *Effects of harvest maturity on the storage life of Japanese type plums. Australian Journal of Experimental Agriculture, 37: 391-397.*
- Abdi N., Holford P., Mc Glasson W.B., Mizrahi Y. 1997b.** *Ripening behaviour and responses to propylene in four cultivars of Japanese type plums. Postharvest Biology and Technology, 12: 21-34.*
- Abu-Kpawoh, J. C., Xi, Y. F., Zhang, Y., Z., Jin, Y. F. 2002.** *Polyamine accumulation following hot-water dips influences chilling injury and decay in 'Friar' plum fruit. Journal of Food Science, 67 (7): 2649-2653.*
- Amorim, L., Martins, M.C., Lourenço, S.A., Gutierrez, A.S.D., Abreu, F.M., Gonçalves, F.P. 2008.** *Stone fruit injuries and damage at the wholesale market of Sao Paulo, Brazil. Postharvest Biology and Technology, 47: 353-357.*
- Ben-Amor, M., Flores, B., Latché, A., Bouzayen, M.Pech, J.C., Romojaro, F. 1999.** *Inhibition of ethylene biosynthesis by antisense ACC oxidase RNA prevents chilling injury in Charentais cantaloupe melons. Plant, Cell and Environment, 22: 1579-1586.*
- Benichou, M., Martinez-Reina, G., Romojaro, F., Pech, J.C., Latche, A. 1995.** *Partial purification and properties of a 36-kDa 1-aminocyclopropane-1-carboxylate N-malonyltransferase from mung bean. Physiologia Palntarum, 94 (4): 629-634.*
- Blankeship, S. M.; Dole, J. M. 2003.** *1-Methylcyclopropene: a review. Postharvest Biology and Technology, 28: 1-25.*
- Boquete, E.J., Trincherro, G.D., Frascina, A.A., Vilella, F., Sozzi, G.O. 2004.** *Ripening of 'Hayward' kiwifruit treated with 1-methylcyclopropene after cold storage. Postharvest Biology and Technology, 32: 57-65.*
- 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.*
- Brecht, J.K, Kader, A.A. 1984.** *Regulation of ethylene production by ripening nectarine fruit as influenced by ethylene and low temperature. Journal of the American Society of Horticultural Sciences, 109 (6): 869-872.*

- Calvo, G. 2002.** *Efecto del 1-metilciclopropeno (1-MCP) en manzanas Red Delicious cosechadas con tres estados de madurez y conservadas en frío convencional y atmósfera controlada.* *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 31 (3): 9-24.
- Calvo, G. 2003.** *Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on pear maturity and quality.* *Acta Horticulturae*, 628: 203-211.
- Calvo, G. 2004.** *Efecto del 1-metilciclopropeno (1-MCP) en peras cv. Williams cosechadas con dos estados de madurez.* *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 33 (2): 3-26
- Calvo, G., Sozzi, G.O. 2004.** *Improvement of post-harvest storage quality of 'Red Clapp's' pears by treatment with 1-methylcyclopropene at low temperature.* *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 79 (6): 930-934.
- Candan, A.P., Calvo, G. 2009.** *Respuesta de ciruelas 'Larry Ann' a un tratamiento post almacenamiento con 1-metilciclopropeno (1-MCP).* Libro de resúmenes, V Jornadas Argentinas de Biología y Tecnología Postcosecha, 27 y 28 de octubre 2009, San Pedro, Buenos Aires, Argentina, p.44
- Candan, A.P., Calvo, G. 2005.** *Treatment with 1-MCP may reduce chilling injury in cold stored Blackamber plums.* 9th International Controlled Atmosphere Research Conference. July 5 to 10 2005, East Lansing, Michigan, USA. pp. 29.
- Cameron, A.C., Reid, M.S. 2001.** *1-MCP blocks ethylene induced petal abscission of *Pelargonium peltatum* but the effect is transient.* *Postharvest Biology and Technology*, 22: 169-177.
- Chick, W.S.H., Leung, P.C. 1997.** *Immunopurification and characterization of a 40-kD 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid N-malonyltransferase from mung bean seedling hypocotyls.* *Plant Physiology*, 113 (1): 119-126
- Crisosto, C.H.; Garner, D.; Crisosto, G. 1997a.** *Evaluating the relationship between controlled atmosphere storage, peach fruit size and internal breakdown.* *Perishables Handling Newsletter*. N°90: 7-8.
- Crisosto, C.H., Johnson, R.S., De Jeong, T., Day, K.R. 1997b.** *Orchard factors affecting postharvest stone fruit quality.* *HortScience*, 32 (5): 820-823.
- Crisosto, C., Mitchell, G.F., Ju, Z. 1999.** *Susceptibility to chilling injury of peach, nectarine and plum cultivars grown in California.* *HortScience*, 34 (6): 1116-1118.



- Crisosto, C.H., Slaughter, D., Garner, D. Boyd, J. 2001.** *Stone fruit critical bruising thresholds. Journal American Pomological Society, 55(2): 76-81.*
- Dodd, M.C. 1984. Internal breakdown in plums. Deciduous Fruit Grower, 34: 355-356.*
- Dong, L., Lurie, S., Zhou, H. W. 2002.** *Effect of 1-methylcyclopropene on ripening of 'Canino' apricots and 'Royal Zee' plums. Postharvest Biology and Technology, 24: 135-145.*
- Dong, L., Zhou, H.W., Sonogo, L., Lers, A., Lurie, S. 2001a.** *Ripening of Red Rosa plums: effect of ethylene and 1-methylcyclopropene. Australian Journal of Plant Physiology, 28: 1039-1045.*
- Dong, L., Zhou, H., Sonogo, L., Lers, A., Lurie, S. 2001b.** *Ethylene involvement in the cold storage disorder of 'Flavortop' nectarine. Postharvest Biology and Technology, 23: 105-115.*
- 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.*
- Eksteen, G.J. 1982.** *Internal breakdown of plums. Deciduous Fruit Grower, 34: 355-356.*
- Fan, X. Argenta, L., Mattheis, J.P. 2000.** *Inhibition of ethylene action by 1-methylcyclopropene prolongs storage life of apricots. Postharvest Biology and Technology, 20: 135-142.*
- 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.*
- Feng, X., Apelbaum, A., Sisler, E.C., Goren, R. 2000.** *Control of ethylene responses in avocado fruit with 1-methylcyclopropene. Postharvest Biology and Technology, 20: 140-150.*
- Flores, F.B., Sanchez-Bel, P., Valdenegro, M., Romojaro, F., Martínez-Madrid, M.C., Egea, M.I. 2008.** *Effects of a pretreatment with nitric oxide on peach (Prunus persica L.) storage at room temperature. European Food Research and Technology, 227: 1599-1611.*
- Foyer, C.H., Descourvières, P., Kunert, K.J. 1994.** *Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants. Plant, Cell and Environment, 17: 507-523.*

- González, G., Kader, A.A., Mitchell, F.G. 1980.** *Factors affecting ripening of selected plum varieties. HortScience, 15: 149.*
- Guerra, M., Casquero, P.A. 2008.** *Effect of harvest date on cold storage and postharvest quality of plum cv. Green Gage. Postharvest Biology and Technology, 47: 325-332.*
- Guillén, F., Castillo, S., Zapata, P.J., Martínez-Romero, D., Valero, D., Serrano, M. 2006.** *Efficacy of 1-MCP treatment in tomato fruit 2. Effect of cultivar and ripening stage at harvest. Postharvest Biology and Technology, 42: 235-242.*
- Guo, L., Arteca, R.N., Phillips, A.T., Liu, Y. 1992.** *Purification and characterization of a 1-aminocyclopropane-1-carboxylate N-malonyltransferase from etiolated mung bean hypocotyls. Plant Physiology, 100: 2041-2045.*
- Harris, D.R., Seberry, J.A., Wills, R.B.H., Spohr, L.J. 2000.** *Effect of fruit maturity on efficiency of 1-methylcyclopropene to delay the ripening of banana. Postharvest Biology and Technology, 20: 303-308.*
- Hartmann, P.E.O., De Kock, V.A., Taylor, M.A. 1988.** *Picking maturities and cold storage requirements of 'Songold' plums. Deciduous Fruit Grower, 38: 161-163.*
- Herrero, A., Guardia, J. 1992.** *Conservación de frutos. Manual técnico. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España, 409 pp.*
- Hershkovitz, V., Saguy, S.I., Pesis, E. 2005.** *Postharvest application of 1-MCP to improve the quality of various avocado cultivars. Postharvest Biology and Technology, 37: 252-264.*
- Hoeberichts, F.A., Van Der Plas, L.H.W., Woltering, E.J. 2002.** *Ethylene perception is required for the expression of tomato ripening-related genes and associated physiological changes even at advanced stages of ripening. Postharvest Biology and Technology, 26: 125-133.*
- Hyodo, H., Kuroda, H., Yang, S.F. 1978.** *Induction of phenylalanine ammonia-lyase and increase in phenolics in lettuce leaves in relation to the development of russet spotting caused by ethylene. Plant Physiology, 62: 31-35.*
- Jahnke, L.S., Hull, M.R., Long S.P. 1991.** *Chilling stress and oxygen metabolizing enzyme in Zea mays and Zea diploperennis. Plant Cell Environment, 14: 97-104.*
- Jiang, Y., Joyce, D.C., Ferry, L.A. 2001.** *1-Methylcyclopropene treatment affects strawberry fruit decay. Postharvest Biology and Technology, 23: 227-232.*

- Jiang, Y., Joyce, D.C., Macnish, A.J. 2002.** Softening response of banana fruit treated with 1-methylcyclopropene to high temperature exposure. *Plant Growth Regulation*, 36: 7-11.
- Jones, B., Pech, J.C., Bouzayen, M., Lelièvre, J.M., Guis, M., Romojaro, F., Latché, A. 2001.** Ethylene and developmentally-regulated processes in ripening climacteric fruit. *Acta Horticulturae*, 553: 133-138.
- Jung, S.K., Watkins, C-B. 2008.** Superficial scald control after delayed treatment of apple fruit with diphenylamine (DPA) and 1-methylcyclopropene (1-MCP). *Postharvest Biology and Technology*, 50: 45-52
- Kader, A.A. 1985.** Ethylene-induced senescence and physiological disorders in harvested horticultural crops. *HortScience*, 20 (1): 54-57.
- Ke, D., Saltveit, M.E. 1989.** Regulation of russet spotting, phenolic metabolism, and IAA oxidase by low oxygen in iceberg lettuce. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 114: 638-642.
- Khan, A.S., Singh, Z. 2007.** 1-MCP regulates ethylene biosynthesis and fruit softening during ripening of 'Tegan Blue' plum. *Postharvest Biology and Technology*, 43: 298-306.
- Khan, A.S., Singh, Z. Abbasi, N.A. 2007.** Pre-storage putrescina application suppresses ethylene biosynthesis and retards fruit softening during low temperature storage in 'Angelino' plum. *Postharvest Biology and Technology*, 46: 36-46.
- Kruger, L., Holcroft, D.M., Huysamer, M., Cook, N.C. 2005.** High-density orchards improve the quality of 'Songold' plums from lower, more shaded canopy positions. *South African Journal of Plant and Soil*, 22 (2): 84-88.
- Larrigaudière, C., Graell, J., Salas, J., Vendrell, M. 1997.** Cultivar differences in the influence of a short time cold storage on ethylene biosynthesis in apples. *Postharvest Biology and Technology*, 10: 21-27
- Larrigaudière, C., Vendrell, M. 1993.** Cold induced activation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid metabolism in rewarmed 'Granny Smith' apples: consequences on ripening. *Scie*
- 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.
- Lee, J.C., Lee, Y. B. 1980.** Physiological study on coloration of plum fruits. I. Effect of

- ethephon on fruit composition and anthocyanin development in 'Santa Rosa' plum (Prunus salicina). Journal of the Korean Society for Horticultural Science, 21 (1): 36-41.*
- Liguori, G., Weksler, A., Zutahi, Y., Lurie, S., Kosto, I. 2004.** *Effect of 1-methylcyclopropene on ripening of melting flesh peaches and nectarines. Postharvest Biology and Technology, 31: 263-268.*
- Liu, H., Jiang, W., Zhou, L., Wang, B., Luo, Y. 2005.** *The effects of 1-methylcyclopropene on peach fruit (Prunus persica L., cv. Jiubao) ripening and disease resistance. International Journal of Food Science and Technology, 40: 1-7*
- Lyons, J.M. 1973.** *Chilling injury in plants. Annual Review of Plant Physiology. 24: 445-466.*
- Mathooko, F.M., Tsunashima, Y., Owino, W.Z.O., Kubo, Y. Inaba, A. 2001.** *Regulation of genes encoding ethylene biosynthetic enzymes in peach (Prunus persica L.) fruit by carbon dioxide and 1-methylcyclopropene. Postharvest Biology and Technology, 21: 265-281.*
- Manganaris, G.A., Crisosto, C.H., Bremer, V., Holcroft, D. 2008a.** *Novel 1-methylcyclopropene immersion formulation extends shelf life of advanced maturity 'Joanna Red' plums (Prunus salicina Lindell). Postharvest Biology and Technology, 47: 429-433.*
- Manganaris, G.A., Vicente, A.R., Crisosto, C.H., Labavitch, J.M. 2007.** *Effect of dips in a 1-methylcyclopropene-generating solution on 'Harrow Sun' plums stored under different temperature regimes. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55: 7015-7020.*
- Manganaris, G.A., Vicente, A.R., Crisosto, C.H., Labavitch, J.M. 2008b.** *Effect of delayed storage and continuous ethylene exposure on flesh reddening of 'Royal Diamond' plums. Journal of the Science of Food and Agriculture, 88 (12): 2180-2185.*
- Marangoni, A.G.; Palma, T., Stanley, D.W. 1996.** *Membrane effects in postharvest physiology. Postharvest Biology and Technology, 7: 193-217.*
- Martínez-Romero, D., Dupille, E., Guillén, F., Valverde, J.M., Serrano, M., Valero, D. J. 2003.** *1- methylcyclopropene increases storability and shelf life in climacteric and nonclimacteric plums. Journal of Agricultural Food Chemistry, 51 (16): 4680-4686.*
- Menniti, A.M., Donati, I., Gregori, R. 2006.** *Responses of 1-MCP application in plums stored under air and controlled atmospheres. Postharvest Biology and Technology, 39: 243-246.*

- Menniti, A.M., Gregori, R, Donati, I., 2004.** *1-Methylcyclopropene retards postharvest softening of plums. Postharvest Biology and Technology, 31: 269-275.*
- Mitcham, E.J., Mattheis, J.P., Bower, J., Biasil, B., Clayton, M. 2001.** *Responses of European pears to 1-MCP. Perishables Handling Quarterly, 108: 16-19.*
- Mitcham, E.J., Mitchell, F.G. 2002.** *Postharvest Handling Systems: Pome Fruits, en Kader, A.A. (Eds.) Postharvest Technology of Horticultural Crops, University of California, pp. 345-356.*
- Mir, N.A., Curell, E., Khan, N., Whitaker, R.M., Beaudry, R.M. 2001.** *Harvest maturity, storage temperature, and 1-MCP application frequency alter firmness retention and chlorophyll fluorescence of 'Red Chief Delicious' apples. Journal of the American Society for Horticultural Science, 126: 618-624.*
- Neri, F. 2003.** *Influence of maturity stage and ripening on sensory quality of peaches, nectarines and plums. Proceedings of Eufirin Workshop on Fruit Quality, Bologna, Italy: 141-142.*
- Owino, W.O., Nakano, R., Kubo, Y., Inaba., A. 2002.** *Differential regulation of genes encoding ethylene biosynthesis enzymes and ethylene response sensor ortholog during ripening and in response to wounding in avocado. Journal of the American Society for Horticultural Science, 127: 520-527.*
- Pathak, N., Asif, M.H., Dhawan, P., Srivastava, M.K., Nath, P. 2003.** *Expression and activities of ethylene biosynthesis enzymes during ripening of banana fruits and effect of 1-MCP treatment. Plant Growth Regulation, 40: 11-19.*
- Perez-Vicente, A., Martinez-Romero, D., Carbonell, A., Serrano, M., Riquelme, F., Guillén, F., Valero, D. 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., Ackerman, M., Ben-Arie, R., Feygenberg, O., Feng, X., Apelbaum, A., Goren, R., Prusky, D. 2002.** *Ethylene involvement in chilling injury symptoms of avocado during cold storage. Postharvest Biology and Technology, 24: 171-181*
- Plich, H. 1999.** *The effect of storage conditions and date of picking on storability and quality of some plum (*Prunus domestica* L.) fruit cultivars. Acta Horticulturae, 485: 301-307.*
- Porat, R., Weiss, B., Cohen, L., Daus, A., Goren, R., Droby, S.. 1999.** *Effects of ethylene and 1-methylcyclopropene on the postharvest qualities of 'Shamouti' oranges.*

*Postharvest Biology and Technology*, 15: 155–163.

**Purvis, A.C., Shewfelt, R.L. 1993.** *Does the alternative pathway ameliorate chilling injury in sensitive plant tissues? Physiologia Plantarum*, 88: 712-718.

**Reid, M.S. 2002.** *Ethylene in postharvest technology*, en Kader, A.A. (Eds.) *Postharvest Technology of Horticultural Crops*, University of California, pp: 149-162.

**Salvador, A., Cuquerella, J., Martínez Jávega, J.M. 2003a.** *1-MCP treatment prolongs postharvest life of Santa Rosa plums. Journal of Food Science*, 68 (4): 1504-1510.

**Salvador, A., Cuquerella, J., Úbeda, S. 2003b.** *1-methylcyclopropene delays ripening process of Black Diamond plums. Acta Horticulturae*, 599: 59-63.

**Schöner, S., Krause H., 1990.** *Protective systems against active oxygen species in spinach: response to cold acclimation in excess light. Planta*, 180: 383–389.

**Selvarajah, S., Bauchot, A.D., John, P. 2001.** *Internal browning in cold-stored pineapples is suppressed by a postharvest application of 1-methylcyclopropene. Postharvest Biology and Technology*, 23: 167-170.

**Serrano, M., Martínez-Romero, Guillén, F., Valero, D. 2003.** *Effects of exogenous putrescine on improving shelf life of tour plum cultivars. Postharvest Biology and Technology*, 30: 259-271.

**Serrano, M., Martínez-Madrid, M.C., Martínez, G., Riquelme, F., Pretel, M.T., Romojaro, F. 1996.** *Review: Role of polyamines in chilling injury of fruit and vegetables. Food Science and Technology International*, 2: 195-199.

**Singh, S.P., Singh, Z., Swinny, E.E. 2009.** *Sugars and organic acids in Japanese plums (*Prunus salicina* Lindell) as influenced by maturation, harvest date, storage temperature and period. International Journal of Food Science and Technology*, 44: 1073-1082.

**Sisler, E.C., Sereck, M. 1999.** *Compounds controlling the ethylene receptor. Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 40: 1-7.

**Skog, L.J., Schaefer, B.H., Smith, P.G. 2001.** *1-methylcyclopropene preserves the firmness of plums during postharvest storage and ripening. Acta Horticulturae*, 553:171-172.

**Skog, L.J., Schaefer, B.H., Smith, P.G. 2003.** *Effect of ripeness at harvest on response of plums to treatment with 1-methylcyclopropene. Acta Horticulturae*, 599: 49-52.

**SmartFresh®. 2008.** *Recomendaciones de uso: ciruelas.* [www.smartfresh.com](http://www.smartfresh.com) (mayo 2009).

**Sozzi, G.O., Abraján-Villaseñor, M., Trincherro, G.D., Frascina, A.A. 2005.** *Postharvest response of 'Brown Turkey' figs (Ficus carica L.) to the inhibition of ethylene perception.* *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 2503-2508.

**Taylor M. A., Rabe E., Dodd M. C., Jacobs G., 1994.** *Effect of storage regimes on pectolytic enzymes, pectic substances, internal conductivity and gel breakdown in cold stored 'Songold' plums.* *Journal of Horticultural Science*, 69 (3): 527-534.

**Taylor M. A., Rabe E., Dodd M. C., Jacobs G., 1993a.** *Influence of sampling date and position in the tree on mineral nutrients, maturity and gel breakdown in cold stored 'Songold' plums.* *Scientia Horticulturae*, 54: 131-141..

**Taylor M. A., Rabe E., Jacobs G., Dodd M. C., 1993b.** *Physiological and anatomical changes associated with ripening in the inner and outer mesocarp of cold stored 'Songold' plums and concomitant development of internal disorders.* *Journal of Horticultural Science*, 68 (6): 911-918.

**Taylor, M.A., Rabe, E., Jacobs, G., Dodd, M.C. 1995.** *Effect of harvest maturity on pectic substances, internal conductivity, soluble solids and gel breakdown in cold stored 'Songold' plums.* *Postharvest Biology and Technology*, 5: 285-294.

**Tsuji, M., Harakawa, M., Komiyama, Y. 1983.** *Inhibition of increase of pulp color and phenylalanine ammonia-lyase activity in plum fruit at high temperature (30°C).* *Journal of Japanese Society of Food Science and Technology*, 30: 688-692.

**Tucker G.A. 1993.** *Introduction.* En: Seymour G.B., Taylor J.E., Tucker G.A. (Eds.) *Biochemistry of Fruit Ripening.* 1–52. Chapman & Hall, Londres

**Valero, D., Guillén, F., Valverde, J.M., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Serrano, M., 2005.** *1-MCP use on Prunus sp. to maintain fruit quality and to extend shelf life during storage: a comparative study.* *Acta Horticulturae*, 682: 933-940.

**Valero, D., Martínez-Romero, D., Valverde, J.M., Guillén, F., Serrano, M., 2003.** *Quality improvement and extension of shelf life by 1-methylcyclopropene in plum as affected by ripening stage at harvest.* *Innovative Food Sciences and Emerging Technologies*, 4: 339-348.

**Valero, C., Crisosto, C.H., Slaughter, D. 2007.** *Relationship between nondestructive firmness measurements and commercially important ripening fruit stages for peaches, nectarines and plums.* *Postharvest Biology and Technology*, 44: 248-253.

- Van Lelyveld, L.J., Bower, J.P. 1984.** *Enzyme reaction leading to avocado fruit mesocarp discoloration. Journal of Horticultural Science, 59: 257-263.*
- Vilaplana, R., Soria, Y., Valentines, C., Larrigaudière, C. 2007.** *Specific response of apple skin and pulp tissues to cold stress and 1-MCP treatment. Postharvest Biology and Technology, 43: 215-220.*
- Wang, C.Y. 1995.** *Effect of temperature preconditioning on catalase, peroxidase, and superoxide dismutase in chilled zucchini squash. Postharvest Biology and Technology, 5: 67-76*
- 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. 2006.** *1-methylcyclopropene (1-MCP) based technologies for storage and shelf life extension. International Journal of Postharvest Technology and Innovation, 1 (1): 62-68.*
- Woolf, A.B., Tapia-Requejo, C., Cox, K.A., Jackman, R.C. Gunson, A., Arpaia, M.L., White, A. 2005.** *1-MCP reduces physiological storage disorders of 'Hass' avocados. Postharvest Biology and Technology, 35: 43-60.*
- Wills, R., McGlasson, B., Graham, D., Joyce, D. 1998.** *Postharvest. An introduction to the physiology & handling of fruit, vegetables & ornamentals. University of New South Wales, Sydney, Australia.*
- Xiao-Ling, R., Feng-Wang, M., Fei, W. 1995.** *Effect of spermidine on ethylene and respiration of plum. Plant Physiology Communications, 31 (3): 186-188.*
- Zauberman, G., Fuchs, Y., Rot, I., Wexler, A. 1988.** *Chilling injury, peroxidase and cellulose activities in the peel of mango fruit at low temperature. HortScience, 23 (4): 732-733.*



## VI CONCLUSIONES



---

## LOS TRABAJOS REALIZADOS EN EL MARCO DE ESTA TESIS NOS PERMITEN CONCLUIR QUE:

---

1. El tratamiento con 1-MCP redujo la tasa de producción de etileno en distintas variedades de ciruelas climatéricas, retrasando así la pérdida de firmeza y de acidez titulable y los cambios en el color de la epidermis y la pulpa. El 1-MCP disminuyó también la incidencia de transparencia, el principal síntoma de daños por frío observado.
2. Los daños por frío se relacionaron con el comportamiento climatérico de la variedad y con la acumulación de ACC tras cortos períodos de almacenamiento a 0°C. Los frutos expuestos a bajas temperaturas no acumularon H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> debido probablemente a la mayor actividad de la enzima POX observada en estas condiciones.
3. El 1-MCP resultó ser una herramienta efectiva para controlar el desarrollo de transparencia en todas las variedades de ciruelas climatéricas estudiadas. Este efecto beneficioso se relacionó con una mayor capacidad de producir MACC en los frutos expuestos a bajas temperaturas.
4. La eficacia del tratamiento con 1-MCP se redujo a medida que aumentó el potencial de producción de etileno de los mismos, siendo menor en: los frutos de cosechas tardías, en los frutos almacenados a 5°C, en las variedades con mayor tasa de producción de etileno, como 'Royal Zee'.
5. Adicionalmente, se demostró que los frutos de cosechas óptimas o tempranas responden a un tratamiento con 0,80 μL L<sup>-1</sup> 1-MCP después de 50 días de almacenamiento a 0°C lo cual permite flexibilizar el uso de esta tecnología.
6. La aplicación de 1-MCP en ciruelas climatéricas suprimidas, como 'Angelino', no brindaría beneficios comerciales debido a que dichas variedades no tienen un deterioro postcosecha asociado a etileno.
7. En conjunto, los resultados obtenidos en esta tesis sugieren que la combinación de almacenamiento refrigerado con la aplicación de 0,40 μL L<sup>-1</sup> de 1-MCP después de la cosecha podría utilizarse a nivel comercial para:
  - Prolongar la conservación frigorífica y reducir el desarrollo de daños por frío en ciruelas climatéricas de cosecha óptima, permitiendo su exportación a mercados de ultramar.
  - Mantener la calidad comercial durante el almacenamiento en ciruelas climatéricas de cosechas tardías, logrando frutos de mayor tamaño y calidad organoléptica.
  - Posibilitar la conservación de ciruelas climatéricas a temperaturas superiores a las óptimas recomendadas con el consecuente ahorro de energía durante el almacenamiento y transporte, y con la posibilidad de reducir la sensibilidad a los daños por frío.



## **VII FUTURAS INVESTIGACIONES**



---

**LOS RESULTADOS DESCRITOS EN ESTA TESIS PLANTEAN NUEVOS INTERROGANTES QUE PODRÁN SER OBJETO DE FUTURAS INVESTIGACIONES TALES COMO:**

---

1. La eficacia del tratamiento con 1-MCP mostró ser altamente dependiente de la variedad. Se propone evaluar los efectos del tratamiento con 1-MCP en otras variedades climatéricas y completar este estudio evaluando también la calidad sensorial en los frutos control y en los frutos tratados con 1-MCP.
2. Considerando que las ciruelas responden a un tratamiento post-almacenamiento con altas dosis de 1-MCP se propone estudiar cual es el máximo período de demora aceptable para la aplicación de este producto.
3. De acuerdo con el contexto mundial en el cual el ahorro de energía es una prioridad generalizada, se considera de interés continuar los estudios que permitan establecer el potencial de almacenamiento de ciruelas climatéricas tratadas con 1-MCP a temperaturas superiores a 0°C.
4. La malonilación mostró ser un proceso clave para el control de la producción de etileno y los daños por frío en ciruelas, por lo cual se propone estudiar más profundamente la vía de derivación del ACC al MACC en ciruelas control o tratadas con 1-MCP.
5. Es de interés también estudiar el efecto del tratamiento con 1-MCP sobre la vía de derivación de la SAM a las poliaminas para definir el papel que podrían jugar estos últimos compuestos en la reducción de los niveles de ACC y de los daños por frío en ciruelas.
6. Finalmente, y considerando el papel que juega el etileno en el desarrollo de daños frío en ciruelas climatéricas, se propone completar los trabajos de esta tesis evaluando el interés que podrían tener otros tratamientos postcosecha que reduzcan la producción de etileno tales como la aplicación de poliaminas, de óxido nítrico y de AVG o el uso de nuevos adsorbedores de etileno dentro de la cámara de almacenamiento o del envase.

Por último, cabe señalar que se han iniciado los estudios propuestos en los puntos 1 y 2, y que los correspondientes resultados serán obtenidos con posterioridad a la finalización de esta tesis, razón por la cual no han sido incluidos en el presente documento.