

**La constitución de la pared celular durante la madurez en planta de peras
‘Bartlett’, y sus modificaciones por la incidencia de luz. Consecuencias
sobre la eficacia de los tratamientos con 1-metilciclopropeno**

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

Raffo Benegas, María Dolores
Ing. Agrónoma - FAUBA - 1994

Lugar de trabajo: EEA Alto Valle, INTA y FCEN, UBA



FAUBA

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



COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Carlos A. Stortz

Licenciado en Ciencias Químicas (Universidad de Buenos Aires)

Doctor en Ciencias Químicas (Universidad de Buenos Aires)

Consejero de Estudios

Ariel R. Vicente

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional de La Plata)

Doctor en Ciencias Exactas (Universidad Nacional de La Plata)

JURADO DE TESIS

Director de tesis

Carlos A. Stortz

Licenciado en Ciencias Químicas (Universidad de Buenos Aires)

Doctor en Ciencias Químicas (Universidad de Buenos Aires)

JURADO

Rodolfo A. Sánchez

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)

Ph.D. en Fisiología Vegetal (Universidad de California)

JURADO

Daniel S. Kirschbaum

Ing. Agrónomo (Universidad Nacional de Tucumán)

Ph. D. en Biología de Plantas (Universidad de California)

JURADO

Pedro M. Civello

Bioquímico (Universidad Nacional de La Plata)

Doctor en Ciencias Bioquímicas (Universidad Nacional de La Plata)

Fecha de defensa de la tesis: 22 de Marzo de 2013

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

M. Dolores Raffo Benegas

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

- M.D RAFFO, E. SÁNCHEZ, y G.O. SOZZI. 2007. Exposure to Direct Sunlight during the Growing Season Delays Postharvest Softening of ‘Williams’ Pears and Improves their Response to 1-Methylcyclopropene. *Acta Horticulturae*, 800:1035-1040.
- M.D. RAFFO, N.M.A. PONCE, G.O. SOZZI, A.R. VICENTE y C.A. STORTZ. 2011. Compositional changes in ‘Bartlett’ pears (*Pyrus communis*, L.) cell wall polysaccharides as affected by sunlight conditions. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 59, 12155-12162.
- M.D. RAFFO, N.M.A. PONCE, G.O. SOZZI, C.A. STORTZ y A.R. VICENTE. 2012. Changes on the cell wall composition of tree-ripened “Bartlett” pears (*Pyrus communis* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 73, 72-79.

A Tadeo, Ivan, Matias y Felipe con amor y gratitud.

Agradecimientos:

A Tadeo por su apoyo y aliento permanente, su paciencia y generosidad. Sin vos no lo hubiera logrado nunca, te amo.

A Ivan, Matías y Felipe, que compartieron generosamente a su mamá y crecieron muchas veces en su ausencia. Son la luz de mi vida, los amo.

A mi mamá y mi papá, por su sostén incondicional y por cuidar y mimar a mi familia durante mis viajes. ¡No sé qué haría si ustedes! Los quiero, gracias.

A mis hermanas, Euge y Paqui que son mis guías, donde estén. Las quiero.

A mi Director, que no sólo me guio profesionalmente, si no que mostró ser una persona humanamente extraordinaria. Muchas gracias Carlos por tu sensatez, simpleza y sabiduría.

A Andrea, que me enseñó pacientemente, todas las técnicas de laboratorio y me hizo sentir parte del grupo. Muchas gracias.

A mi Consejero que con su gran capacidad y experticia iluminó al trabajo en momentos de gran incertidumbre. Gracias Ariel.

A Cecilia, Vanina, Gloria, Florencia, Diego, por hacerme sentir tan bienvenida en cada viaje al laboratorio y a mis compañeros de trabajo del INTA, por cubrirme generosamente en mis ausencias.

A Gabriela y Ana Paula por su aliento y enseñanza en las temáticas de la poscosecha y a Male, Tito, Norma y Lucia por su contención.

Al INTA, por el aporte económico para la realización del postgrado.

INDICE GENERAL

Capítulo 1. INTRODUCCIÓN.

1.1. Importancia de la producción de peras Bartlett y problemáticas asociadas con su comercialización y distribución.....	1
1.2. Características texturales de los productos fruti-hortícolas y su relación con la pared celular.....	4
1.2.1. Pared celular.....	6
1.2.2. Componentes de la pared celular primaria.....	8
1.2.3. Asociación y disposición de los diferentes componentes.....	12
1.2.4. Cambios de la pared celular durante la maduración de los frutos.....	14
1.2.5. Cambios en la pared celular durante la maduración de las peras.....	19
1.3. Factores ambientales en la precosecha	
1.3.1. Efecto de factores ambientales en la precosecha sobre la calidad de los frutos.....	22
1.3.1.1. Temperatura.....	23
1.3.1.2. Radiación.....	25
1.3.2. Efecto de factores ambientales en la precosecha sobre el comportamiento poscosecha de los frutos.....	30
1.3.2.1. Conservación a bajas temperaturas.....	31
1.3.2.2. Conservación en atmósferas controladas.....	32
1.4. El etileno en la maduración de los frutos: efectos, utilización e inhibición de su acción.....	32
1.5. Hipótesis de trabajo y objetivos.....	37
1.5.1. Hipótesis.....	37
1.5.2. Objetivo general.....	38
1.5.3. Objetivos específicos.....	38

Capítulo 2 MATERIALES Y MÉTODOS.

2.1. Material vegetal	40
2.1.1. Ensayo 1: Efecto de la maduración de peras Bartlett en el árbol sobre la calidad y degradación de pared celular de la pulpa y piel de los frutos.....	40
2.1.2. Ensayo 2: Efecto de radiación solar recibida sobre la calidad y degradación de pared celular de los frutos.....	41
2.1.3. Ensayo 3: Efecto de radiación PAR y UVB sobre la calidad y ablandamiento de los frutos.....	42
2.1.4. Ensayo 4: Efecto de radiación visible y UVB sobre la eficacia de tratamientos poscosecha con el inhibidor de la acción del etileno 1-MCP.....	43
2.2. Determinaciones de factores precosecha	44
2.3. Índices de madurez	47
2.3.1. Determinación del momento óptimo de cosecha.....	47
2.3.2. Etileno.....	48
2.3.3. Color.....	49
2.3.4. Firmeza.....	49
2.3.5. Jugo libre.....	50
2.3.6. Análisis sensorial.....	50
2.4. Aislamiento y análisis de polisacáridos de la pared celular ...	51
2.4.1. Residuo insoluble en alcohol (AIR).....	51
2.4.2. Determinación de almidón.....	53
2.4.3. Fraccionamiento de la pared celular.....	53
2.4.4. Acondicionamiento de muestras.....	54
2.4.5. Cuantificación de azúcares totales.....	55
2.4.6. Cuantificación de ácidos urónicos.....	55
2.4.7. Determinación de azúcares neutros por cromatografía gaseosa.....	56
2.4.8. Determinación de despolimerización de pectinas y hemicelulosas por cromatografía de exclusión de geles (SEC).....	57
2.5. Análisis estadístico	58

Capítulo 3. RESULTADOS

3.1. Ensayo 1

- 3.1.1. Cambios en los índices de madurez y en la composición de la pared celular de la pulpa de peras Bartlett madurando en el árbol..... 60
- 3.1.2. Cambios en la pared celular de la piel de peras Bartlett madurando en el árbol..... 74

3.2. Ensayo 2

- 3.2.1. Efecto de la radiación solar incidente y la temperatura sobre la firmeza e índices de madurez de peras Bartlett..... 83
- 3.2.2. Efecto de la radiación solar incidente y la temperatura sobre la estructura y composición de pared celular de pera cv. Bartlett..... 93

3.3. Ensayo 3

- 3.3.1. Ensayos preliminares de discriminación del efecto de la radiación y de la temperatura sobre el metabolismo de pared y ablandamiento de pera Bartlett..... 103

3.4. Ensayo 4

- 3.4.1. Evaluación de índices de madurez de peras Bartlett tratadas con 1-MCP..... 116
- 3.4.2. Metabolismo de la pared celular de peras Bartlett tratadas con 1-MCP..... 122

Capítulo 4. DISCUSIÓN

- 4.1. El ablandamiento y cambio de color de frutos de pera Bartlett en el árbol, proceden *in planta* con una elevada producción de etileno aunque ocurren más lentamente que en el caso de frutos cosechados y madurados *ex planta* 134
- 4.2. La maduración de los frutos de pera Bartlett en el árbol hasta etapas avanzadas provoca una reducción del contenido de jugo

libre y de la percepción de la jugosidad a la madurez.....	137
4.3. La pérdida de jugosidad de pera Bartlett madurada en el árbol por períodos prolongados se asocia con una serie de cambios inusuales en la degradación de pared celular.....	139
4.4. La piel de frutos de pera Bartlett muestra sustanciales diferencias en términos de contenido y composición de pared celular respecto que la pulpa. La insolubilización de pectinas observada en la pulpa de frutos cosechados en estado de madurez avanzada no se observa en la piel.....	145
4.5. La posición y la orientación de las peras dentro del canopeo pueden determinar diferencias de temperatura de frutos de más de 10 °C y una reducción de la radiación interceptada del 90%.....	149
4.6. Los frutos provenientes de zonas soleadas del árbol son más firmes a la cosecha que los de zonas sombreadas. Las diferencias permanecen aún luego del almacenamiento poscosecha.....	153
4.7. Los frutos expuestos al sol presentan a la cosecha mayor proporción de pectinas solubles en agua y álcali y hemicelulosas de mayor tamaño que los no expuestos.....	156
4.8. Durante la maduración la degradación de la pared celular ocurre en ambos grupos de frutos pero la solubilización de pectinas es menos marcada que en los frutos sombreados. Esto se asocia con una menor remoción de las cadenas laterales de de RG-I más que con una menor despolimerización.....	159
4.9. El contraste de firmeza entre frutos soleados y sombreados no se produce sólo por diferencias de temperatura sino que existiría una influencia de la radiación total interceptada. La radiación UV-B posee influencia sobre el sonrojo pero no sobre la textura.....	162
4.10. Las condiciones de cultivo poseen una importante influencia sobre la eficacia de los tratamientos poscosecha con 1-MCP. Las mejores respuestas se observan en los frutos provenientes	

de posiciones soleadas de la copa del árbol.....	165
Capítulo 5. CONCLUSIONES	169
BIBLIOGRAFÍA	175

ÍNDICE DE CUADROS

- Cuadro 3.1.** Composición de azúcares neutros (g kg AIR^{-1}) de las fracciones pécicas de pulpa de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA)..... 69
- Cuadro 3.2.** Composición de azúcares neutros (g kg AIR^{-1}) de las fracciones de glicanos de entrecruzamiento de pulpa de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA)..... 70
- Cuadro 3.3.** Composición de azúcares neutros (g kg AIR^{-1}) de las fracciones pécicas de piel de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA) 79
- Cuadro 3.4.** Composición de azúcares neutros (g / kg AIR^{-1}) de las fracciones de glicanos de entrecruzamiento de piel de peras Bartlett, en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA)..... 80
- Cuadro 3.5.** Extractabilidad de ácidos urónicos (g/100 g fracción) de la pared celular de peras Bartlett en agua, CDTA, Na_2CO_3 , KOH 1M y 4M, para los tratamientos con diferente grado de exposición a la luz solar (Sol y Sombra), al momento de cosecha y luego de 13 d a 20 °C (13 DCC)..... 95
- Cuadro 3.6.** Composición de azúcares neutros (mol/100 moles) de las fracciones pécicas de peras Bartlett en los tratamientos con diferente grado de exposición

a la luz solar (Sol y Sombra) al momento de cosecha y luego de 13 días de almacenamiento a 20 °C (13 DDC).....	96
Cuadro 3.7. Composición de azúcares neutros (mol/100 moles) de los glicanos de entrecruzamiento de peras Bartlett en los tratamientos con diferente grado de exposición a la luz solar (Sol y Sombra) al momento de cosecha y luego de 13 días de almacenamiento a 20 °C (13 DDC).....	99
Cuadro 3.8. Extractabilidad de azúcares neutros (g/100 g fracción) de la pared celular de peras Bartlett en agua, CDTA, Na ₂ CO ₃ , KOH 1M y 4M, para los tratamientos con diferente grado de exposición a la luz solar (Sol y Sombra), al momento de cosecha y luego de 13 d a 20 °C (13 DDC).....	100
Cuadro 3.9. Color de peras Bartlett tratados con 1-MCP bajo diferentes condiciones de radiación en precosecha. Los valores de L*, C* y h° corresponden a la cara expuesta (CE) y no expuesta (CNE) antes del almacenamiento y luego de 13 y 23 d a 20 °C.....	119
Cuadro 3.10. Contenido de ácidos urónicos (g por 100 g fracción) de pared celular de peras Bartlett que crecieron en diferentes condiciones de luz (Sol y Sombra), tratadas con 1-MCP y luego de 13 y 23 d de conservación a 20°C.....	124
Cuadro 3.11. Composición de azúcares neutros (mol/100 moles) de las fracciones pécicas de peras Bartlett bajo diferentes condiciones de luz tratadas con 1-MCP y luego de 13 y 23 días de almacenamiento a 20 °C.....	125
Cuadro 3.12. Extractabilidad de azúcares neutros (g por 100 g fracción) de la pared celular de peras Bartlett en agua, CDTA, Na ₂ CO ₃ , KOH 1M y 4M, para los tratamientos con diferente grado de exposición a la luz solar (Sol y Sombra),	

tratados con 1-MCP y luego de 13 y 23 días de almacenamiento a 20 °C (13 DDC y 23 DDC)..... 126

Cuadro 3.13. Extractabilidad de azúcares neutros (g por 100 g fracción) de la pared celular de peras Bartlett en agua, KOH 1M y 4M, para los tratamientos con diferente grado de exposición a la luz solar (Sol y Sombra), tratados con 1-MCP y luego de 13 y 23 d a 20 °C (13 DDC y 23 DDC)..... 130

Cuadro 3.14. Composición de azúcares neutros (mol/100 moles) de la matriz de glicanos de peras Bartlett bajo diferentes condiciones de luz, tratadas con 1-MCP y luego de 13 y 23 días de almacenamiento a 20 °C..... 131

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Esquema de fenología de peras Bartlett para el Alto Valle de Río Negro y Neuquén	3
Figura 1.2. Esquema de los principales componentes de la pared celular y de sus posibles interacciones.....	13
Figura 1.3. Modelo "multi capa", modelo de la pared propuesto por Talbot y Ray (1992) pm: membrana plasmática; ml: lámina media. Tomado de Cosgrove (2001).....	14
Figura 2.1. Región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, y ubicación de la localidad de Contralmirante Guerrico.....	40
Figura 2.2. Zonas del fruto de donde se extrajeron las muestras para el análisis de pared celular en el Ensayo 1 a partir del inicio de madurez.....	52
Figura 2.3. Protocolo utilizado en el fraccionamiento de pared celular de peras Bartlett.....	54
Figura 3.1. Producción de etileno de peras Bartlett durante el desarrollo de los frutos en planta.....	60
Figura 3.2. Luminosidad (L*) de peras Bartlett madurando en planta, desde los 95 a los 161 días post anthesis (DPA)	61
Figura 3.3. Ángulo hue (°) de peras Bartlett madurando en planta, desde los 95 a los 161 días post anthesis (DPA).....	62
Figura 3.4. Firmeza (N) de peras Bartlett madurando en planta, desde los 95 a los 161 días post anthesis (DPA).....	63

- Figura 3.5.** Jugo libre (%) en la pulpa de peras Bartlett cosechadas en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA)..... 64
- Figura 3.6.** Perfil de textura, aroma y sabor de peras Bartlett madurando en planta y cosechadas en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA). Los valores fueron determinados con escala lineal de 0 a 10 en donde 0 = nada, 10 = extrema..... 65
- Figura 3.7.** Rendimiento de AIR de pulpa de peras Bartlett madurando en planta, desde los 41 a los 161 días post anthesis (DPA)..... 66
- Figura 3.8.** Extractabilidad de ácidos urónicos en las diferentes fracciones de la pared celular de pulpa de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA) 67
- Figura 3.9.** Extractabilidad de azúcares neutros en las diferentes fracciones de la pared celular de pulpa de peras Bartlett en (ER, 119 DPA), un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA)..... 68
- Figura 3.10.** Cromatografía de exclusión molecular (SEC) de las fracciones Agua, CDTA y Na₂CO₃, KOH 1M y KOH 4M (F-Agua, F- CDTA, F-Na₂CO₃ respectivamente) de pulpa de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA), y tardía o sobre madurez (SM, 161 DPA), en columna de Sepharose CL-6B (F-Agua) y CL-2B (F- CDTA y F-Na₂CO₃). V₀, volumen muerto; V_T, volumen total..... 71

- Figura 3.11.** Cromatografía de exclusión molecular (SEC) de las fracciones KOH 1M y KOH 4M (F-KOH 1M y F-KOH 4M, respectivamente) de pulpa de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA), y tardía o sobre madurez (SM, 161 DPA), en columna de Sepharose CL-6B. V_0 , volumen muerto; V_T , volumen total..... 72
- Figura 3.12.** Secuencia de los cambios de la pared celular en peras Bartlett madurando en planta en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA) y madurez medio (MM, 147 DPA) que desarrollan una textura normal y característica de la variedad, y un estadio de sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA) que no logró la textura jugosa y mantecosa deseada 73
- Figura 3.13.** Rendimiento de AIR de la piel de peras Bartlett madurando en el árbol en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA)..... 75
- Figura 3.14.** Extractabilidad de ácidos urónicos en las diferentes fracciones de la pared celular de la piel de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA)..... 76
- Figura 3.15.** Extractabilidad de azúcares neutros en las diferentes fracciones de la pared celular de la piel de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA)..... 77
- Figura 3.16.** Proporción de AN/AU en las fracciones pécticas de de la pared celular de A) pulpa; B) piel de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA)..... 78

- Figura 3.17.** Cromatografía de exclusión molecular (SEC) de las fracciones Agua, CDTA y Na₂CO₃ (F-Agua, F- CDTA, F-Na₂CO₃ respectivamente) de piel de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA), y tardía o sobre madurez (SM, 161 DPA), en columna de Sepharose CL-6B (F-Agua) y CL-2B (F-CDTA y F-Na₂CO₃). V₀, volumen muerto; V_T, volumen total..... 81
- Figura 3.18.** Cromatografía de exclusión molecular (SEC) de las fracciones KOH 1M y KOH 4M (F-KOH 1M y F-KOH 4M, respectivamente) de piel de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA), y tardía o sobre madurez (SM, 161 DPA), en columna de Sepharose CL-6B. V₀, volumen muerto; V_T, volumen total..... 82
- Figura 3.19.** Marcha de la radiación fotosintéticamente activa (PAR) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en la sección norte y sur de la espaldera de peras Bartlett A) en dos días con nubosidad y B) en dos días con cielo despejado..... 84
- Figura 3.20.** Peso específico de hojas de brote de peras Bartlett una semana antes de la cosecha para los tratamientos Sol y Sombra 85
- Figura 3.21.** Evolución diaria de la temperatura de la cara expuesta de frutos en los tratamientos Sol y Sombra y de la temperatura media de aire al comienzo de la temporada de verano..... 86
- Figura 3.22.** Evolución diaria de la temperatura de la cara no expuesta de frutos en los tratamientos Sol y Sombra y de la temperatura media de aire al comienzo de la temporada de verano..... 87
- Figura 3.23.** Marcha del diferencial de temperatura medido (ΔT) entre la cara expuesta y no expuesta de frutos del tratamiento Sol durante un día cálido y

- con cielo despejado (Temperatura máxima de aire 39,1 °C) y durante un día cálido y con nubosidad (Temperatura máxima de aire 38,3 °C) 88
- Figura 3.24.** Temperatura superficial de la cara expuesta y no expuesta de frutos en los tratamientos Sol y Sombra. A) en un día con temperatura media de aire 34 °C; B) en un día con temperatura promedio de aire 23 °C..... 89
- Figura 3.25.** Sólidos solubles, acidez titulable y color: ángulo de matiz o hue y luminosidad de peras Bartlett que crecieron en dos condiciones diferentes de exposición a la radiación solar en el campo (Sol y Sombra) al momento de cosecha..... 91
- Figura 3.26.** Firmeza de la cara expuesta (CE) y no expuesta (CNE) de peras Bartlett desarrolladas con diferente grado de exposición a la luz solar (sol y sombra), al momento de cosecha y luego de 13 días a 20 °C (13 DDC). 92
- Figura 3.27.** Rendimiento de AIR de peras Bartlett desarrolladas con diferente grado de exposición a la luz solar (Sol y Sombra), al momento de cosecha y luego de 13 días a 20 °C (13 DDC)..... 93
- Figura 3.28.** Perfiles de cromatografía de exclusión molecular de peras Bartlett del tratamiento Sol (A,C,E,G,I,K) y Sombra (B,D,F,H,J,L) al momento de cosecha (A,B,E,F,I,J) y luego de 13 días de almacenamiento a 20 °C (13 DDC) (C,D,G,H,K,L). A-D. F-Agua en columna de Sepharose CL-6B. E-H F-CDTA en columna de Sepharose CL-2B Col. I-L F-Na₂CO₃ en columna de Sepharose CL-2B. V₀, Volumen muerto; V_T, Volumen total..... 98
- Figura 3.29.** Perfiles de cromatografía de exclusión molecular de peras Bartlett del tratamiento Sol (A,C,E,G) y Sombra (B,D,F,H) al momento de cosecha (A,B,E,F), y luego de 13 días de almacenamiento a 20 °C (13 DDC)

(C,D,G,H). A-D: F- 1 M KOH y E-H: F- 4 M KOH en columna de Sepharose CL-6B. V_0 , Volumen muerto; V_T , Volumen total.....	102
Figura 3.30. Espectro de absorción (200 a 1.100 nm) de 1-control (sin película), 2-Stretch y 3- Mylar-D.....	104
Figura 3.31. Porcentaje de transmitancia de radiación UVB para las películas Mylar-D y Stretch en bastidores colocados a campo.....	105
Figura 3.32. Marcha de la radiación PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) durante 3 días en los tratamientos Mylar-D (sensor colocado bajo película Mylar-D), Stretch (sensor colocado bajo película Stretch) y PAR (sensor colocado sobre paneles).....	106
Figura 3.33. Evolución de la temperatura de la cara expuesta (CE) de frutos en los tratamientos Mylar-D, Stretch, Sol y temperatura promedio de aire al comienzo de la temporada de verano.....	107
Figura 3.34. Evolución de la temperatura de la cara no expuesta (CNE) de frutos en los tratamientos Mylar-D, Stretch, Sol y temperatura promedio de aire al comienzo de la temporada de verano.....	108
Figura 3.35. Temperatura superficial de la cara expuesta (CE) y no expuesta (CNE) de frutos en los tratamientos Mylar-D y Stretch. A) día con temperatura media de aire $\approx 32^\circ\text{C}$ y B) día con temperatura promedio de aire $\approx 23^\circ\text{C}$	109
Figura 3.36. Sólidos solubles, acidez titulable y color: ángulo de matiz o hue y luminosidad de peras Bartlett que crecieron en dos condiciones diferentes de exposición a la radiación solar UVB en el campo: Mylar-D (menor nivel de UVB) y Stretch (mayor nivel de UVB) al momento de cosecha.....	110
Figura 3.37. Firmeza (N) de la cara expuesta (CE) de peras Bartlett de los tratamientos Sol, Stretch, Mylar-D y Sombra. A) al momento de cosecha y B) luego de 13 d de almacenamiento a 20°C (13 DDC)	112

- Figura 3.38.** Firmeza (N) de la cara no expuesta (CNE) de peras Bartlett de los tratamientos Sol, Stretch, Mylar-D y Sombra. A) al momento de cosecha y B) luego de 13 d de almacenamiento a 20 °C (13 DDC) 114
- Figura 3.39.** Firmeza de la cara expuesta (CE) y no expuesta (CNE) de peras Bartlett tratadas con 1-MCP bajo diferentes condiciones de radiación en precosecha, luego de 13 d de almacenamiento a 20 °C..... 120
- Figura 3.40.** Firmeza de la cara expuesta (CE) y no expuesta (CNE) de peras Bartlett tratadas con 1-MCP bajo diferentes condiciones de radiación en precosecha, luego de 23 d de almacenamiento a 20 °C..... 121
- Figura 3.41.** Perfiles de cromatografía de exclusión molecular (SEC) de la fracción soluble en Agua de peras Bartlett tratadas con 1-MCP de los tratamientos: Sol y Sombra luego de 13 DDC y 23 DDC almacenadas a 20 °C. Fraccionadas con columna de Sepharose CL-6B. V_0 , volumen eluido; V_T , volumen total..... 127
- Figura 3.42.** Perfiles de cromatografía de exclusión molecular (SEC) de la fracción soluble en CDTA de peras Bartlett tratadas con 1-MCP de los tratamientos: Sol y Sombra luego de 13 DDC y 23 DDC almacenadas a 20 °C. Fraccionadas con columna de Sepharose CL-2B. V_0 , volumen muerto; V_T , volumen total..... 128
- Figura 3.43.** Perfiles de cromatografía de exclusión molecular (SEC) de la fracción soluble en Na_2CO_3 de peras Bartlett tratadas con 1-MCP de tratamientos: Sol y Sombra luego de 13 DDC y 23 DDC almacenadas a 20 °C. Fraccionadas con columna de Sepharose CL-2B. V_0 , volumen muerto; V_T , volumen total..... 129
- Figura 3.44.** Perfiles de cromatografía de exclusión molecular (SEC) de la fracción soluble en KOH 1M de peras Bartlett tratadas con 1-MCP de tratamientos: Sol y Sombra luego de 13 DDC y 23 DDC almacenadas a 20 °C. Fraccionadas con columna de Sepharose CL-6B. V_0 , volumen muerto; V_T , volumen total..... 132

Figura 3.45. Perfiles de cromatografía de exclusión molecular (SEC) de la fracción soluble en KOH 4M de peras Bartlett tratadas con 1-MCP de tratamientos: Sol y Sombra luego de 13 DDC y 23 DDC almacenadas a 20 °C. Fraccionadas con columna de Sepharose CL-6B. V_0 , volumen muerto; V_T , volumen total 133

INDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1.1. Peras Bartlett, en donde se observan las características propias del cultivar.....	2
Fotografía 2.1. Bastidores y sensores de radiación PAR y UVB utilizados para determinar el porcentaje de radiación retenido por las películas Mylar-D y Stretch.....	46
Fotografía 3.1. Vista de un bastidor con una película utilizada y que redujo la PAR sin ocasionar marcadas diferencias en la temperatura de los frutos	103

LISTADO DE SIGLAS Y ABREVIATURAS

- 1-MCP:** 1-metilciclopropeno
- AC:** Atmósfera controlada
- ACC:** ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico
- ACO:** ACC oxidasa
- ACS:** ACC sintasa
- AIR/RIA:** residuo insoluble en alcohol
- AN:** azúcares neutros
- Ara:** arabinosa
- atm:** atmósfera
- AU:** ácidos urónicos
- AX:** arabinoxilanos
- C:** cromaticidad
- CDTA:** ácido trans-1,2-diaminociclohexano-N,N,N',N'-tetraacético
- CE:** cara expuesta
- CNE:** cara no expuesta
- CSS:** Contenido de sólidos solubles
- cv:** cultivar
- DDC:** días después de cosecha
- DE:** desvío estándar
- DPA:** días post anthesis
- F-Agua:** fracción soluble en agua
- F-CDTA:** fracción soluble en CDTA
- FID:** detector de ionización de llama
- F-KOH 1M:** fracción soluble en hidróxido de potasio 1M (diluido)
- F-KOH 4M:** fracción soluble en hidróxido de potasio 4M (concentrado)
- F-Na₂CO₃:** fracción soluble en carbonato de sodio
- Fuc:** Fucosa
- Gal:** Galactosa
- GAX:** glucuronoarabinoxilanos
- GGMs:** galactoglucomananos
- GGP:** glicoproteínas ricas en glicina
- Glc:** Glucosa
- GMs:** galactomananos

h°: ángulo de matiz (del inglés 'hue angle')

HG: homogalacturonano

HPGP: glicoproteínas ricas en hidroxiprolina

L*: luminosidad

m.s.n.m.: metros sobre el nivel del mar

Man: Manosa

NaOAc: acetato de sodio

p/v: peso en volumen

PAR: radiación fotosintéticamente activa

PCP: pared celular primaria

PCS: pared celular secundaria

PGP: glicoproteínas ricas en prolina

PM: peso molecular

PME: pectin metil esterasas

Ram: Ramnosa

RG-I: ramnogalacturonano Tipo I

RG-II: ramnogalacturonano Tipo II

SAM: S-adenosilmetionina

SEC: cromatografía de exclusión molecular

TFA: ácido trifluoracético

XG: Xiloglucano

Xil: Xilosa

RESUMEN

LA CONSTITUCIÓN DE LA PARED CELULAR DURANTE LA MADUREZ EN PLANTA DE PERAS BARTLETT, Y SUS MODIFICACIONES POR LA INCIDENCIA DE LUZ. CONSECUENCIAS SOBRE LA EFICACIA DE LOS TRATAMIENTOS CON 1-METILCICLOPROPENO

La firmeza es el atributo más importante en las peras y está determinada en parte, por la estructura de la pared celular (PC) y por su desintegración. No han sido completamente identificadas las modificaciones que ocurren en los polisacáridos de la PC de pulpa y piel ni las anomalías bioquímicas que se asociarían a la aparición de texturas atípicas provocada por una cosecha tardía de peras Bartlett. Tampoco se ha analizado a la fecha la influencia de los factores precosecha sobre la composición de la PC, el ablandamiento de los frutos y la eficacia de tratamientos de poscosecha como los realizados con 1-metilciclopropeno (1-MCP), inhibidor de la acción del etileno. A fin de estudiar estos aspectos se muestrearon peras Bartlett que maduraron en planta para los estudios de ontogenia en pulpa y piel; al mismo tiempo se trabajó con peras que crecieron bajo diferentes condiciones de radiación a campo y luego fueron almacenadas a 20 °C por 13 y 23 d con y sin tratamiento de 1-MCP. Se determinó la firmeza, el color, los sólidos solubles, la acidez titulable, el porcentaje de almidón, la producción de etileno, el jugo libre, se realizó análisis sensorial y luego se efectuó la extracción y fraccionamiento de la PC. Sobre esta última se determinó la solubilidad, composición y distribución de tamaños moleculares. Los resultados demostraron que los frutos que maduraron en planta presentaron anomalías texturales asociadas a una menor solubilización de pectinas y de arabinosa. Asimismo se determinó que la composición y el metabolismo de PC de peras Bartlett difieren en el tejido de pulpa y piel. Se estableció que la mayor exposición solar resultó en un aumento de la firmeza de los frutos. Esto se relacionó con una mayor proporción de pectinas solubles en álcali y hemicelulosas de mayor tamaño molecular a cosecha. Por último, la eficacia del 1-MCP se vio incrementada por condiciones de mayor radiación-temperatura en precosecha, siendo la radiación UVB poco relevante.

PALABRAS CLAVE: *Pyrus communis*, Bartlett, polisacáridos de pared celular, pectinas, glicanos entrelazantes, ablandamiento, factores precosecha, firmeza, textura.

ABSTRACT**CELL WALL COMPOSITION OF ON TREE-RIPENED BARTLETT PEARS,
AND ITS MODIFICATIONS BY PREHARVEST SUNLIGHT CONDITIONS.
IMPLICATIONS ON THE EFFECTIVENESS OF 1-
METHYLCYCLOPROPENE TREATMENTS.**

Firmness is the most important quality attribute in pear fruit, and is known to be determined, at least in part, by cell wall (CW) structure and disassembly. Neither the changes that occur in the CW polysaccharides from different fruit regions (pulp and skin) nor the biochemical abnormalities possibly associated with the appearance of non-typical textures originated in late harvests of Bartlett pears were fully identified. Likewise, few studies have analyzed the influence of fruit preharvest sunlight conditions on softening, CW composition and degradation and on the efficacy of common postharvest treatments such as those with the ethylene action inhibitor 1-methylcyclopropene (1-MCP). With this aim, Bartlett pears ripened on the tree were sampled for the study of ontogeny in pulp and skin; simultaneously, pears grown under different field conditions of radiation and then stored at 20 °C for 13 and 23 d (with and without 1-MCP treatment) were studied. We measured firmness, color, soluble solids content, titratable acidity, starch content and degradation, ethylene production, free juice and we carried out a fruit sensory analysis, followed by extraction and fractionation of the CW material. We also determined the solubility of different wall components as well as their composition and molecular weight distribution. Results showed that tree-ripened pears had textural abnormalities associated with a lower solubilization of pectin and arabinose. We also found that the composition and metabolism of Bartlett pear CW differ in pulp and skin regions. Sunlight exposure resulted in firmer fruit. This was associated with a higher proportion of alkali-soluble pectins and hemicelluloses with high molecular weight at harvest. Finally, the efficacy of 1-MCP was increased by high radiation-temperature conditions before harvest. The influence of radiation was not due to the UVB region which only had effects on fruit surface color.

KEYWORDS: *Pyrus communis*, 'Bartlett', cell wall polysaccharide; pectins; cross-linking glycans; softening; preharvest conditions, firmness, texture.

Capítulo 1. INTRODUCCIÓN

1.1. Importancia de la producción de peras Bartlett y problemáticas asociadas con su comercialización y distribución

Argentina es el primer productor de peras del Hemisferio Sur y el primer exportador mundial, con una producción de alrededor de 700.000 t y un volumen exportado que alcanzó en la temporada 2009 las 454.041 t (FAOSTAT, 2011). De las exportaciones nacionales de peras, el 92% corresponde a las provincias de Río Negro y Neuquén (SENASA, 2009), en donde hay aproximadamente 23.500 ha plantadas con perales, siendo los cultivares más importantes: Bartlett conocido también por el nombre William's Bon Chrétien (47%), Packham's Triumph (34%), Beurré D' Anjou (10%), cultivares rojas (5%) y otros (5%) (FunBaPa, 2012).

A nivel mundial, Bartlett es el cultivar de pera europea con mayor demanda, seguida por Packham's Triumph. El principal destino comercial de la producción de peras Bartlett del Alto Valle es la exportación, a donde se vende el 61% de la producción. Los países compradores más importantes son Brasil, Rusia, Italia y Estados Unidos. El 17% de la producción se comercializa en el mercado doméstico mientras que el 22% se industrializa para la producción de jugo concentrado como producto principal. La exportación de peras en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén aporta al sector 340 millones de dólares, y las peras Bartlett constituyen el 41,2% del total de dichas exportaciones (FunBaPa, 2012).

Esta zona presenta condiciones agro-meteorológicas excepcionales para el desarrollo de sistemas tecnológicos y productivos eco-compatibles, lo que le otorga ventajas competitivas potenciales de gran importancia. Las peras Bartlett presentan un

fruto alargado y de tamaño mediano a medianamente grande, con numerosas lenticelas, oscuras, pequeñas y distribuidas uniformemente (Fotografía 1.1). El pedúnculo es largo, grueso y de color verde amarillento. La pulpa es blanco cremosa, de textura fina, jugosa y con buen equilibrio entre la acidez y el dulzor. La piel es más o menos lisa, de color verde y va cambiando a un color pardo o amarillento cuando madura.



Fotografía 1.1. Peras Bartlett, en donde se observan las características propias del cultivar.

En el Alto Valle este cultivar alcanza el estado de madurez fisiológica con una edad de fruto promedio de 106 días (Figura 1.1). Es un cultivar que presenta un bajo potencial de conservación, con un tiempo máximo de 3 a 4 meses en frío a $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Benítez, 2001). Este período se puede extender hasta 5 meses, mediante el empleo de atmósfera controlada (AC) con concentraciones de O_2 y CO_2 de entre 1-2% y 0-0,5% respectivamente y a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ de temperatura (Thompson *et al.*, 2000).

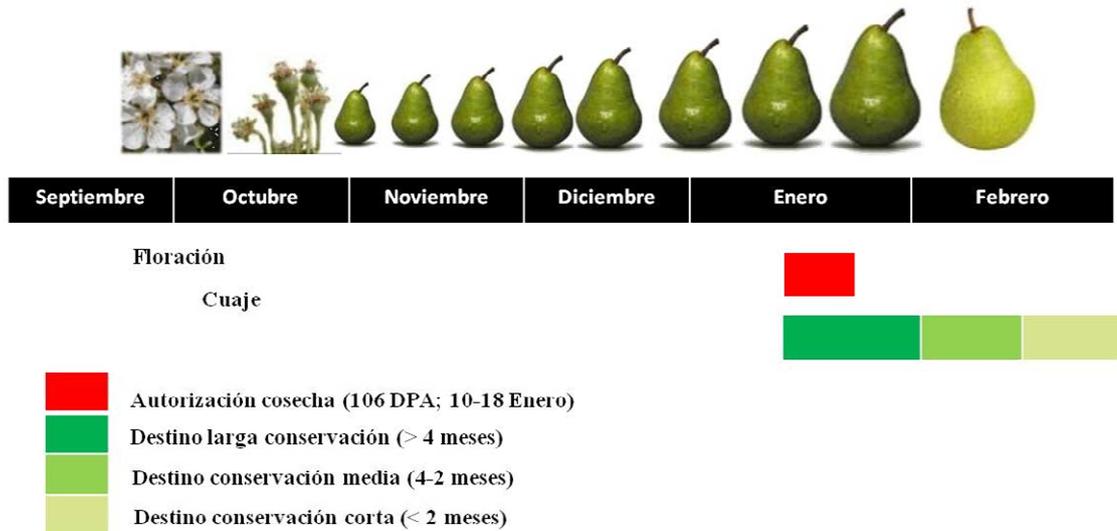


Figura 1.1. Esquema de la fenología de peras Bartlett en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén.

El mercado de peras frescas presenta una importante problemática derivada de una elevada variabilidad intrínseca de la calidad de los frutos de un mismo cultivar, determinada principalmente por las condiciones ambientales prevalecientes en la temporada de crecimiento (Kliewer y Lider, 1970; Wolf *et al.*, 1999, 2000; Saltveit, 2003). La influencia de algunos factores de precosecha sobre el desarrollo de color, contenido de sólidos solubles y algunos componentes de importancia desde el punto de vista nutricional han sido estudiados con bastante detalle (Lee y Kader, 2000; Nunes, 2008). También se ha descrito que las condiciones durante el cultivo pueden afectar las propiedades texturales de los frutos (Sams, 1999) aunque la influencia de los diferentes factores así como las bases bioquímicas asociadas con estos cambios son prácticamente desconocidas. Por último, diferencias en el manejo y condiciones ambientales durante el desarrollo de los frutos pueden determinar variaciones importantes en el comportamiento poscosecha y en su respuesta a diferentes tratamientos tecnológicos (Wolf y Ferguson, 2000).

1.2. Características texturales de productos fruti-hortícolas y su relación con la pared celular

Se puede definir a la textura de un alimento como al conjunto de características físicas que se perciben por medio del sentido del tacto, y que se relacionan con la deformación, desintegración o fluidez cuando se les aplica una fuerza, que pueden ser medidas objetivamente por una función de fuerza, tiempo y distancia (Bourne, 1980). La textura es quizás el principal atributo que determina la percepción de la calidad de las peras por parte de los consumidores (Zerbini, 2002). La textura de frutos y vegetales de hoja está determinada por diversos factores. Uno de ellos, acaso el menos estudiado, es la presión hidrostática de las células, conocida comúnmente como presión de turgencia (Shackel *et al.*, 1991; King *et al.*, 2000; Salentijn *et al.*, 2003). Asimismo la deshidratación y los daños en las membranas celulares así como la elongación pueden tener influencia en las características texturales (Sexton *et al.*, 1997; Waldron *et al.*, 2003). Por otra parte, se conoce que al menos en parte las modificaciones en la textura de los vegetales se relacionan con cambios en la estructura y composición de las paredes celulares (Sams, 1999; Brummell y Harpster, 2001). Por ejemplo, el tamaño de los frutos es un factor que se correlaciona generalmente con las características texturales de los mismos. En manzanas (Blanpied *et al.*, 1978), frutillas (Ourecky y Bourne, 1968), y arándanos (Ballinger *et al.*, 1973; Harker *et al.*, 1997), los frutos de tamaño pequeño presentan una textura más firme, debido a que el tamaño está determinado por el número y volumen de las células que lo conforman. Frente a un mismo número de células en frutos grandes y pequeños, los pequeños poseen células de menor tamaño y una mayor proporción de su volumen ocupado por pared celular que los grandes, que

presentan células más expandidas (Sams, 1999). Por otra parte, el tamaño celular conjuntamente con el patrón de ordenamiento de estas influye en la textura de los frutos, ya que determinan el volumen de los espacios intercelulares y afectan indirectamente la adhesión entre las células (Harker *et al.*, 1997); por ejemplo, los kiwis presentan un 2% de espacio extracelular y una textura blanda (Hallett *et al.*, 1992) mientras que en manzanas crocantes el espacio intercelular es mayor y alcanza valores de 20 a 25% (Reeve, 1953).

En la mayoría de los frutos la textura se ve modificada por la presencia de células no parenquimáticas. Ejemplo de esto son las células del floema que presentan una pared celular primaria engrosada; células de la epidermis, que también tienen una pared gruesa y presentan depósitos especiales (cutícula y cera) en su superficie exterior, y por último las traqueidas, vasos xilemáticos, fibras y esclereidas que tienen gruesas paredes lignificadas. Aunque en algunos casos estas células no parenquimáticas se encuentran dispersas en la pulpa, generalmente están contenidas en tejidos y estructuras específicas, particularmente en la piel, vasos y semillas (Harker *et al.*, 1997).

El término firmeza se utiliza comúnmente para referirse a una medida de la fuerza máxima registrada en ensayos de ruptura por compresión, utilizando una sonda con área y forma definida, que coincide con el momento de falla mecánica de los tejidos. Esta medida si bien sencilla e incompleta se considera usualmente una determinación que refleja en buena medida la textura de los frutos. La firmeza presenta una disminución marcada de sus valores a medida que avanza el proceso de maduración en la mayor parte de los frutos (Kader *et al.*, 1982; Stow, 1988; Knee y Smith, 1989; Ponce *et al.*, 2010).

El ablandamiento controlado es un cambio deseable en los frutos desde el punto de vista de los consumidores, no obstante, la pérdida excesiva de firmeza es un

problema muy importante en el manejo poscosecha de frutas (Fisher y Bennett, 1991) ya que puede afectar la calidad y la capacidad de almacenamiento y su aceptabilidad. Konopacka y Plochanski (2004) relacionaron la firmeza de 3 cultivares de manzana con la aceptación determinada por un panel sensorial. Los frutos que presentaron valores de firmeza muy bajos o muy elevados, no tuvieron buena aceptación por parte de los panelistas, por otra parte, la pérdida prematura de firmeza en los frutos, aumenta la susceptibilidad al daño mecánico y al ataque por agentes patógenos (Vorwerk *et al.*, 2004) limitando de esta manera su transporte, almacenamiento, disminuyendo la vida en estante y dificultando la comercialización.

La pérdida de firmeza que ocurre en los frutos durante la poscosecha y que con frecuencia impide su comercialización es provocada en buena medida por las modificaciones que se producen en los polisacáridos de pared celular. Dichos cambios involucran principalmente reducción del grado de metilesterificación de los compuestos pécticos, la despolimerización y/o solubilización de pectinas y glicanos de entrecruzamiento y la pérdida de azúcares neutros, principalmente galactosa y arabinosa (Sozzi, 2004).

La firmeza es un índice utilizado para determinar la aptitud o calidad de pera para los destinos de ultramar, por lo que resulta de interés comprender las bases fisiológicas que relacionan los cambios en este atributo con las modificaciones bioquímicas que ocurren a nivel de la pared celular, por otra parte, la comprensión de la influencia de factores de cultivo sobre estos aspectos es claramente un área en la que se conoce muy poco.

1.2.1 Pared celular

Las paredes celulares vegetales son estructuras altamente complejas, organizadas y a su vez dinámicas, compuestas por polisacáridos, proteínas, compuestos fenólicos e iones (Carpita y Gibeaut, 1993) y juegan un papel clave en el crecimiento y desarrollo de los frutos: proveyendo soporte, definiendo el tamaño y la forma de la célula, actuando de barrera física ante un ataque de patógenos, conteniendo marcadores y componentes de señalización y comunicación y generando oligosacáridos derivados de pectinas que pueden desencadenar respuestas para el desarrollo o activar mecanismos de defensa en respuesta a hongos y bacterias (Brett y Waldron, 1996; Carpita y McCann, 2000).

Al ser un compartimiento dinámico su estructura, composición y propiedades cambian a lo largo del desarrollo, durante el proceso de división celular se generan las nuevas paredes primarias, que aumentan rápidamente su superficie en el transcurso del proceso de expansión celular. La laminilla o lámina media constituye la región de la pared celular que se encuentra en la zona de contacto entre dos células contiguas y es muy rica en componentes de naturaleza péctica. Durante la diferenciación celular, las células especializadas como las xilemáticas, generan una pared secundaria rica en lignina (PCS) internamente de la pared primaria, y cuya composición depende de la especialización de dichas células y que se caracteriza por una mayor proporción de celulosa y polímeros de naturaleza fenólica como la lignina (Carpita y McCann, 2000). La pared celular primaria (PCP) posee un menor contenido relativo de celulosa mayor de pectinas y un grado de hidratación (65% de agua) superior a las PCS y se sabe que más allá de contribuir a la integridad estructural posee funciones vinculadas con la transducción de señales (Caffall y Mohnen, 2009). A excepción de ciertas células especializadas (fibras) y de los tejidos de conducción de agua y nutrientes minerales, la pulpa posee células con PCP (Brummell, 2006). En el caso de las peras se observa la

presencia de células pétreas que poseen pared secundaria con una composición similar a la observada en los vasos xilemáticos.

1.2.2. Componentes de la pared celular primaria

Tres grandes grupos de polisacáridos componen cerca del 90-95% del peso seco de la PCP: celulosa, hemicelulosas o glicanos de entrecruzamiento y pectinas. Se suele generalizar que las paredes celulares de los frutos están conformadas por aproximadamente 35% de celulosa, 15-20% de glicanos de entrecruzamiento y frecuentemente más de 40% de pectinas (Brummell y Harpster, 2001). Asimismo existen en menor abundancia proteínas estructurales, a continuación se describen las principales características de cada uno de estos grupos.

Celulosa: Es la biomolécula más abundante en la naturaleza ya que forma la mayor parte de la biomasa terrestre. La celulosa es un homopolisacárido compuesto por cadenas lineales de β -1,4-glucano que se disponen formando microfibrillas. Tiene una estructura lineal, en la que se establecen múltiples puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de las distintas cadenas yuxtapuestas de glucano (Carpita y McCann, 2000). La región interna de las microfibrillas es cristalina y excluye el agua, mientras que las capas externas son más amorfas posibilitando que otras moléculas de la matriz puedan entretenerse con ellas (Brummell, 2006).

Glicanos de entrecruzamiento: es un conjunto variado de moléculas polisacáridicas caracterizadas por separarse de la celulosa por extracciones en medio alcalino, están conformadas mayormente por azúcares neutros y se asocian a las microfibrillas de

celulosa por puentes de hidrógeno formando una matriz. La rigidez estructural de la pared celular depende de la integridad de la red formada por celulosa y glicanos de entrecruzamiento. En las Dicotiledóneas, los compuestos hemicelulósicos más abundantes son los siguientes:

- a) Xiloglucano (XG): Es un polímero de D-glucosa con uniones β -(1,4) y ramificaciones en la posición 6 de: α -D-xilosa o unidades de α -D-xilosa sustituidas en la posición 2 por β -D-galactosa y eventualmente por α -L-fucosa, entre otras variantes menores (por ejemplo, dos unidades de galactosa o de arabinosa sustituyendo a la xilosa, o una unidad de fucosa sobre la galactosa)- Comprende el glicano de entrecruzamiento más importante en plantas dicotiledóneas y monocotiledóneas no Comelinoides (Caffall y Mohnen, 2009).
- b) Xilanos: son los polisacáridos no celulósicos menos importantes en la pared primaria de Dicotiledóneas, que comprenden aproximadamente 5% de la PCP (Darvill *et al.*, 1980). Están constituidos por cadenas lineales de 1,4- β -D-xilosa. Muchos de ellos están sustituidos por cadenas laterales de α -L-arabinosa, y muchas veces también de ácido α -D-glucurónico, generando así los llamados arabinoxilanos (AX) y glucuronoarabinoxilanos (GAX).
- c) Mananos: al igual que la celulosa y algunos glicanos de entrecruzamiento, contienen una cadena lineal de monosacáridos unidos β -1,4, siendo en este caso la manosa el monosacárido que la compone.

Incluye también a los galacto-glucomananos (GGMs) y galactomananos (GMs), polisacáridos no celulósicos menos abundantes, pero presentes en todas las Dicotiledóneas estudiadas. Son componentes estructuralmente importantes en la pared celular aunque pueden también poseer función de reserva o bien de protección y/o retención de agua en semillas (gomas y mucílagos) (Caffall y Mohnen, 2009).

Pectinas: Las pectinas son una familia heterogénea de polímeros ricos en ácido α -D-galacturónico y altamente hidratados (Carpita y McCann, 2000). Las pectinas conforman el grupo de compuestos mayoritarios en la pared celular de los frutos y pueden llegar a componer aproximadamente la mitad del contenido de todos los polisacáridos de la pared celular (Brummell, 2006). La matriz péctica de las células vegetales es una mezcla compleja de homogalacturonano (HG), ramnogalacturonano tipo I (RG-I) y ramnogalacturonano tipo II (RG-II).

- a) Homogalacturonano (HG), Es el polisacárido péctico más abundante. Está conformado por una cadena lineal de ácido galacturónico asociada mediante uniones α -1,4 (Carpita y McCann, 2000). Puede representar el 60% de las pectinas de la pared celular de plantas (Ridley *et al.*, 2001). Muchas de las propiedades biológicas y funciones de los HG estarían determinadas por las interacciones iónicas que dependen de la presencia de grupos carboxilo libres. Un aumento en el grado de metil esterificación de los HG está implicada en aumentar la separación de las células.

b) Ramnogalacturonano tipo I (RG-I) es un hetero-polímero que contiene una cadena principal formada por unidades repetidas de disacáridos $\rightarrow 4$ - $[\alpha\text{-D-GalpA-(1}\rightarrow 2)\text{-}\alpha\text{-L-Rhap}]_n(1\rightarrow$ y cadenas laterales de $\alpha\text{-L-Araf}$ y $\beta\text{-D-Galp}$. No es mucho lo que se sabe de su función, pero hay evidencia de que cambios en las cadenas laterales de arabinanos y galactanos presentes en este polímero ocurren en momentos intermedios de la maduración de muchos frutos en forma previa a la reducción marcada que se observa en la firmeza (Brummell y Harpster, 2001).

c) Ramnogalacturonano de tipo II son los polisacáridos estructuralmente más complejos y constituyen a la resistencia y tensión de las paredes celulares vegetales. Tienen un esqueleto de HG con cadenas laterales diversas y pueden dimerizarse a través de enlaces di-éster de borato (O'Neill *et al.*, 1996). Los xilogalacturonanos (XGA) pertenecen a este tipo de galacturonanos (Caffall y Mohnen, 2009).

Proteínas estructurales: a pesar que la pared celular está mayoritariamente compuesta por carbohidratos, las proteínas estructurales forman parte de esta red, son glicoproteínas ricas en aminoácidos como prolina, hidroxiprolina y glicina y reciben el nombre de acuerdo al aminoácido que las enriquece. Encontramos así a las glicoproteínas ricas en hidroxiprolina (HPRP), glicoproteínas ricas en prolina (PRP) y las glicoproteínas ricas en glicina (GRP) (Carpita y Mc Cann, 2000).

Un cuarto grupo de proteínas estructurales de pared son las arabino-galactano proteínas con una estructura proteica asociada a una porción glucídica formada por arabinosa y galactosa que constituye más del 95% de su peso.

1.2.3. Asociación y disposición espacial de los diferentes componentes

Mientras que la información acerca de la estructura de los diferentes componentes de pared celular se encuentra bien establecida, ha sido mucho más dificultoso determinar la forma en la que esos componentes se encuentran asociadas entre sí. Si bien se han identificado algunas de estas asociaciones (Figura 1.2), la organización e interacción detallada de los mismos no se conocen con total certeza.

Las microfibrillas de celulosa interactúan principalmente con los demás compuestos de la pared celular por medio de puentes hidrógeno (Brummell y Harpster, 2001), no obstante se ha sugerido que azúcares neutros de cadenas laterales de pectinas pueden en ciertos casos asociarse con la celulosa (Oechslin *et al.*, 2003; Vignon *et al.*, 2004). En los últimos años Zykwinska *et al.* (2005) proveyeron evidencias de la existencia de interacciones covalentes entre pectinas y celulosa, presumiblemente a través de arabinanos y galactanos, por otra parte, hallazgos relativamente recientes sugieren la existencia de interacciones covalentes entre el xiloglucano y el RG I (Popper y Fry, 2005). Las pectinas son los componentes celulares que pueden interactuar a través de una mayor diversidad de enlaces que los glicanos de entrecruzamiento y la celulosa (Brummell y Harpster, 2001). Los polímeros pécticos tienen la capacidad de formar puentes hidrógeno, uniones hidrofóbicas, covalentes e iónicas tales como los puentes de calcio Ca^{+2} (Voragen *et al.*, 1995) así como puentes di éster mediados por borato (O'Neil *et al.*, 1996).

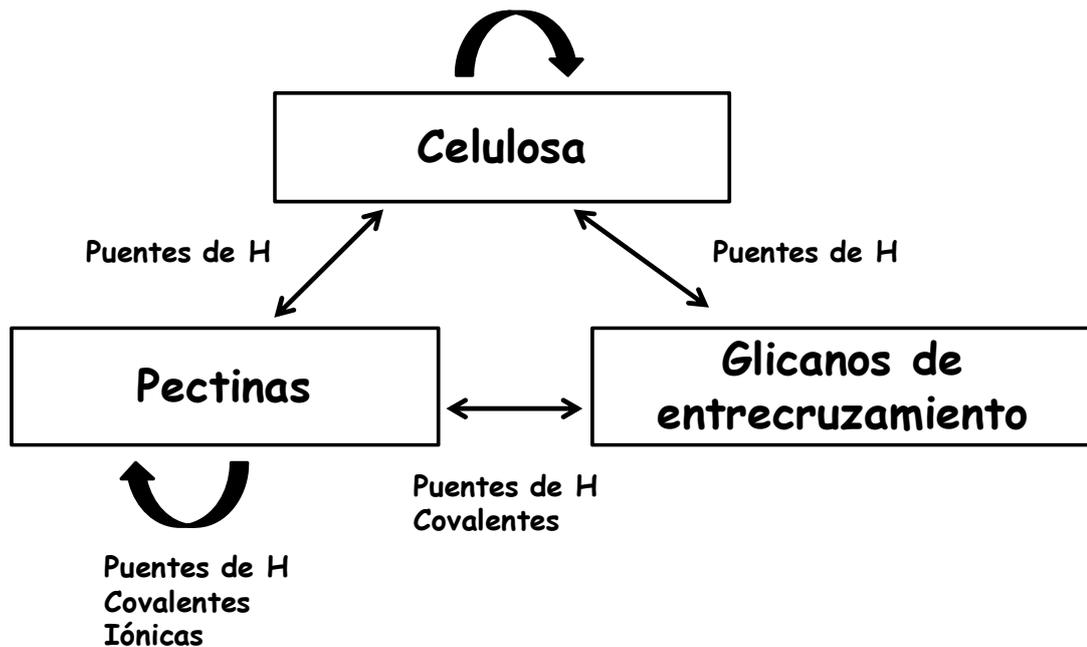


Figura 1.2. Esquema de los principales componentes de la pared celular y de sus posibles interacciones.

Los modelos de pared celular no son más que representaciones simplificadas de su arquitectura. Varios modelos se han propuesto a partir de la información de los diferentes componentes, de su facilidad de extracción, de las propiedades biofísicas de las paredes y de observaciones microscópicas (Keegstra *et al.*, 1973; Carpita y Gibeaut, 1993; Cosgrove *et al.*, 2001; Thompson, 2005). Si bien no existe un modelo definitivo, el más aceptado propone que la red de microfibrillas de celulosa están interconectadas por moléculas de xiloglucano dentro de una misma capa, y que estas capas se encuentran inmersas en una matriz de pectinas y proteínas estructurales que las unen (Cosgrove, 2001). En este modelo las pectinas regularían el espesor de la pared, la porosidad de la misma y facilitarían el deslizamiento entre las capas de glicanos de entrecruzamiento-celulosa, que controlarían a su vez la extensión de la pared (Figura 1.3).

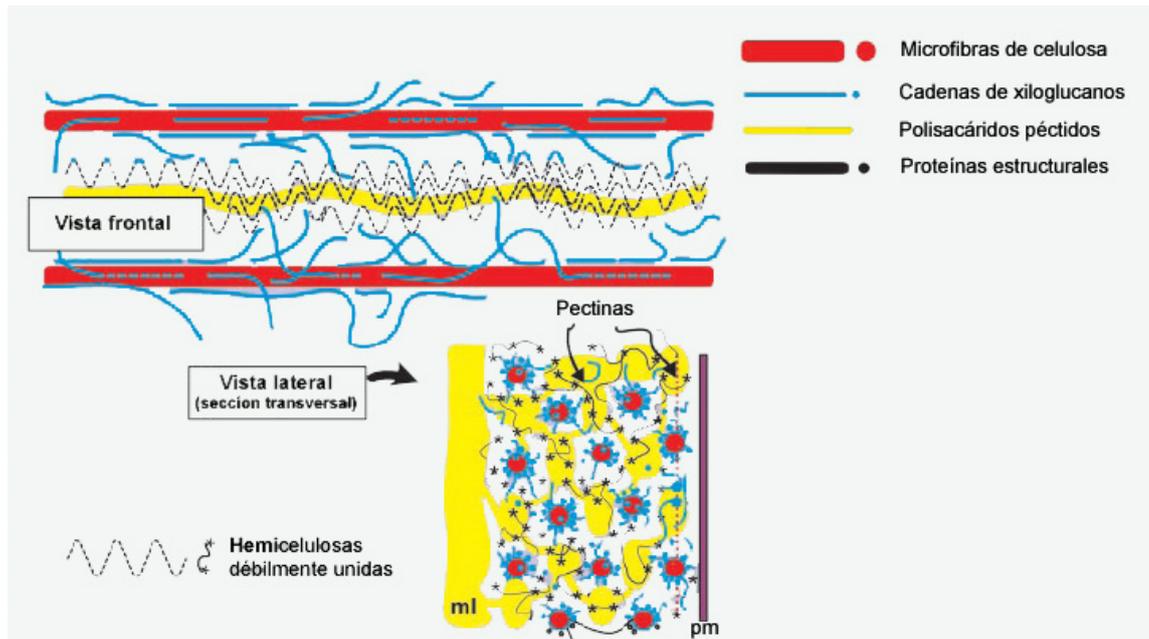


Figura 1.3. Modelo "multi capa", modelo de la pared propuesto por Talbot y Ray (1992) pm: membrana plasmática; ml: lámina media. Tomado de Cosgrove (2001).

A pesar de la indudable utilidad y simplicidad de estos modelos, resulta importante reconocer que la composición y arreglo de los diferentes componentes de pared celular pueden variar entre especies, cultivares, tejidos y aún en regiones dentro de una misma célula (Carpita y McCann, 2000).

1.2.4. Cambios de la pared celular durante la maduración de los frutos

El desarrollo de los frutos requiere un balance entre la biosíntesis de pared y su degradación, generando una estructura que puede por un lado expandirse ante los requerimientos del crecimiento (Cosgrove *et al.*, 2002), luego mantener la rigidez y aportar sostén y finalmente dar lugar a un desensamblaje dramático hacia el final del proceso de maduración (Rose *et al.*, 2004). El patrón de degradación y las bases bioquímicas de esta "desorganización organizada" varían según la especie considerada

aunque existen una serie de cambios que se observan en forma generalizada, que varían en el grado en el que se manifiestan en función de la especie frutal o cultivar (Brummell, 2006; Ponce *et al.*, 2010).

Las tres fracciones de polisacáridos más importantes, pectinas, glicanos de entrecruzamiento y posiblemente, las regiones amorfas de la celulosa, experimentan modificaciones estructurales durante la maduración. Se describen a continuación los procesos y cambios que ocurren fundamentalmente durante la maduración de los frutos.

Solubilización de pectinas: Durante el proceso de maduración de la mayoría de los frutos se observa un aumento de la cantidad de poliuronidos solubles en agua y en agentes quelantes a expensas de la fracción extraíble con carbonato de sodio, proceso denominado solubilización de pectina. De todas maneras la proporción de pectinas solubilizadas es diferente en las distintas especies, observándose por ejemplo en paltas una solubilización tres veces mayor que en kiwi y por otra parte una solubilización apenas apreciable en manzanas y melones (Redgwell *et al.*, 1997a). La solubilización de pectinas está relacionada con la relajación que se produce en la red conformada por xiloglucanos y celulosa y con el hinchamiento de la pared celular. Estos cambios físicos que ocurren en la pared celular, combinado con el aumento en su porosidad causado por la pérdida de cadenas laterales de arabinanos y galactanos de los RG-I, hace que la pared sea una estructura más abierta, favoreciendo el acceso de los enzimas a los sustratos poliméricos, disminuyendo las restricciones o aumentando la tasa de desmantelamiento de la pared. De esta manera, en procesos secuenciales de extracción como los anteriormente descritos dentro de las metodologías de estudio de las paredes celulares, conforme avanza la maduración los poliuronidos son progresivamente solubilizados en condiciones menos drásticas.

Si bien a nivel global se comprende que la despolimerización y la remoción de cadenas laterales de los polímeros puede reducir su capacidad de interacción con otros componentes parietales, los mecanismos específicos por los cuales ciertos compuestos pécticos pasan a formar parte de fracciones con interacciones más débiles no se conocen en forma precisa (Brummell, 2006).

Pérdida de galactosa y arabinosa: la mayor parte de la galactosa y la arabinosa de la pared celular primaria de los tejidos vegetales se encuentra presente en 1,4- β -D-galactanos, 1,5- α -L-arabinanos o en arabinogalactanos ramificados, formando parte de las cadenas laterales de los RG-I (Carpita y Gibeaut, 1993). La pérdida de galactosa y arabinosa poliméricas es un proceso que ocurre comúnmente durante la maduración de la mayoría de los frutos (Gross y Sams, 1984; Redgwell *et al.*, 1997b). De todas maneras, al igual que ocurre con la solubilización de las pectinas, es variable entre especies. Si bien la arabinosa y la galactosa están presentes en todos los extractos pécticos, estas se encuentran preferentemente en las fracciones solubles en carbonato de sodio, y en mucho casos permanecen como azúcares importantes en las fracciones hemicelulósicas extraídas con álcalis más fuertes. Incluso luego de la extracción con estos agentes, suelen quedar remanentes de éstos azúcares en la fracción celulósica (Seymour *et al.*, 1990; Redgwell *et al.*, 1997b). Esto sugiere una considerable fracción del RG-I estaría integrada fuertemente a la pared celular, por medio de sus cadenas laterales y/o su cadena principal (Redgwell *et al.*, 1997b; Zykwinska *et al.*, 2005) y es en estos polímeros fuertemente unidos que se observan los cambios relacionados a la madurez.

La pérdida progresiva de las cadenas de arabinanos y galactanos de RG-I durante la maduración modifican probablemente las propiedades de la pared celular

(rigidez/flexibilidad) y la adhesión intercelular, aumentando la porosidad de la pared y afectando la solubilización de las pectinas. La pérdida de ramificaciones de las cadenas laterales de RG-I parece ser un factor importante de los cambios que afectan la firmeza y textura de los frutos en estados intermedios del proceso de maduración (Brummell, 2006).

Despolimerización de pectinas: La despolimerización de los poliuronidos solubles en agentes quelantes presenta importantes consecuencias en la adhesión célula-célula, y por lo tanto afecta en la textura de los frutos. La despolimerización de los poliuronidos varía considerablemente entre especie, como así también en el momento en que ocurre dentro del proceso de maduración. Se ha registrado una muy leve despolimerización de estas fracciones en pimientos (Harpster *et al.*, 2002), bananas (Wade *et al.*, 1992), en diversos *berries* (Vicente *et al.*, 2007 a y b) y en manzanas (Yoshioka *et al.*, 1992); en cambio se observó una despolimerización alta en paltas (Huber y O'Donoghue, 1993) e intermedia en tomates (Brummell y Labavitch, 1997) y duraznos (Brummell *et al.*, 2004). La despolimerización de pectinas se observa con mayor frecuencia en estados de madurez ya avanzados. La misma se cree está asociada con la actividad de enzimas hidrolíticos tales como poligalacturonasas y pectato liasas (Jiménez Bermúdez 2002; Giovannoni, 2004). En particular aquellos enzimas capaces de clivar al HG en sitios internos (endo-enzimas) son los que poseen mayor capacidad despolimerizante.

Desmetilación de pectinas: El homogalacturonano (HG) es sintetizado y secretado al apoplasto con un alto grado de metilesterificación (Carpita y McCann, 2000), que va disminuyendo durante el desarrollo por la acción de enzimas (pectin metil esterasas, PME) (Willats *et al.*, 2001). La reducción en el grado de metilación de las

pectinas es un evento particularmente importante en el proceso de maduración de los frutos (Brummell, 2006). La desmetilación de pectinas afecta su grado de hidratación y solubilización, y modifica también las condiciones de pH del apoplasto. De esta manera, se crea una superficie cargada que restringe el movimiento de proteínas básicas y otras moléculas con carga a través de la pared celular (Grignone y Sentenac, 1991). Si bien la remoción de esteres metílicos en la posición 6 de los residuos de ácido galacturónico genera sitios disponibles para la formación de puentes de calcio es importante mencionar que las pectinas demetilesterificadas resultan mejores sustratos para la acción de poligalacturonasas.

Despolimerización de glicanos de entrecruzamiento: Este es quizás el cambio que está más fuertemente correlacionado con el ablandamiento de los frutos. Una progresiva disminución del peso molecular de los glicanos de entrecruzamiento ha sido observada durante el proceso de maduración en todas las especies estudiadas (Brummell, 2006). La despolimerización de los xiloglucanos podría ser la más significativa, debido a la importancia que tienen en la estructura ocasionada por la unión con la celulosa. La ruptura de la red conformada por xiloglucano-celulosa, también podría afectar el hinchamiento de la pared celular, que estaría correlacionado positivamente con la solubilización de pectinas (Brummell, 2006).

Despolimerización de celulosa: La insolubilidad que presenta la celulosa en los solventes utilizados habitualmente y su baja reactividad química y susceptibilidad al ataque de enzimas (la celulosa cristalina no es degradada por la endo1,4 β -D-glucanasas identificadas en plantas) y la variación moderada durante la maduración en muchas especies, ha originado que existan muy pocos estudios que hayan evaluado en detalle a

esta fracción. La limitada evidencia disponible sugiere que la despolimerización de la celulosa no es un aspecto central en la maduración de la mayoría de los frutos. De todas maneras, la modificación de zonas amorfas podría afectar de manera importante las propiedades de la pared celular, si esas cadenas fueran justamente las que interactúan con los otros componentes de la pared (Brummell, 2006).

El estudio cronológico de los cambios que ocurren en la pared celular durante la maduración de los frutos de manera sistemática se ha realizado solamente en pocos frutos de especies leñosas, tales como duraznos (Brummell *et al.*, 2004) y ciruelas japonesas (Ponce *et al.*, 2010). Este tipo de trabajos brindan información importante para el ajuste del manejo de la poscosecha de los frutos.

1.2.5. Cambios de pared celular durante la maduración de las peras

En peras los estudios realizados hasta la fecha se han focalizado en la evaluación del metabolismo de pared celular durante el almacenamiento y en la identificación de diferentes patrones para cada cultivar. Los primeros estudios en peras demostraron que el ablandamiento poscosecha ocurre en asociación con cambios dinámicos tanto en las pectinas como en los glicanos de entrecruzamiento (Jermyn e Isherwood, 1954). Ahmed y Labavitch (1980) informaron que las principales modificaciones que acompañan la pérdida de firmeza de peras almacenadas, incluían la solubilización de una sustancial cantidad de arabinosa y ácido galacturónico. Posteriormente, Dick y Labavitch (1988) hallaron que el ramnogalacturonano tipo I (RG-I) es degradado durante la maduración de peras Bartlett.

La madurez propia al momento de la cosecha es crucial para todos los frutos ya que puede afectar la resistencia a enfermedades, la efectividad de los tratamientos poscosecha y la susceptibilidad al desarrollo de enfermedades fisiológicas durante el almacenamiento (Chen y Mellenthin, 1981; Calvo y Sozzi, 2004). Los frutos no climatéricos deben cosecharse cerca de la madurez organoléptica ya que si se realiza en forma prematura se obtienen productos de menor calidad organoléptica. En la mayor parte de los frutos climatéricos, existe un período de cosecha más amplio, que depende del destino de la mercadería: comercialización rápida luego de unas pocas semanas y almacenamiento por periodos cortos o prolongados (Kader, 2002).

Llamativamente la mayor parte de las peras europeas muestran cierta resistencia a madurar al momento de la cosecha y desarrollan la mejor calidad si son cosechadas en estadios tempranos y maduran fuera del árbol. La cosecha de peras Bartlett requiere un tamaño de fruto mínimo, lo cual hace que en temporadas en las que las temperaturas no son suficientemente elevadas, se deba retrasar el inicio de cosecha a fin de esperar los tamaños comerciales necesarios. Así mismo es usual realizar la recolección de peras por pasadas (con un tamaño mínimo), extendiendo el período de cosecha por 3 a 4 semanas. Murayama *et al.* (2002) y Mitcham *et al.* (2012), investigaron los cambios en los componentes de la pared celular de peras Europeas que maduraban normalmente y otras que mostraban alteraciones en este proceso y hallaron que la aparición de textura arenosa (meealiness) se asociaba con una reducción en el proceso de solubilización de pectinas. Peras europeas como el cultivar La France, que desarrollan una textura fundente y jugosa presentan una mayor solubilidad de poliuronidos que frutos de cultivares no fundentes o sin esas características texturales como la pera china Yali (Hiwasa *et al.*, 2004).

Las peras son sistemas de estudio únicos en que los frutos adquieren una textura arenosa si son madurados en el árbol. Murayama *et al.* (1998) concluyeron que la madurez de las peras Marillat y Marguerire al momento de la cosecha afectó la solubilización de los polisacáridos de la pared celular y que frutos cosechados 14 y 28 días luego del período óptimo no resultaron jugosos y mantecosos (*buttery*). Más recientemente, los mismos autores (Murayama *et al.*, 2006) informaron que el anillado en las ramas de los árboles, por sobre la zona de abscisión de los frutos, restauró parcialmente el proceso de degradación de pared y ablandamiento de peras Bartlett. No obstante, las principales modificaciones que ocurren en los polisacáridos de la pared durante la maduración de peras Bartlett en el árbol así como las anomalías bioquímicas que podrían estar asociadas con la aparición de una textura anormal no han sido completamente identificadas.

Como se describió anteriormente, el inicio de la cosecha de peras Bartlett suele retrasarse por falta de tamaño. A su vez la duración del período de recolección suele extenderse en el tiempo hasta que los índices de madurez alcancen un estado muy avanzado o hasta que comienza la recolección de los cultivares de manzanas tempranos como son Royal Gala y sus clones. En las últimas cinco temporadas el retraso de la cosecha provocó que quedara en planta entre un 15 y un 20% de la producción, que representa entre 52.000 t y 58.000 t de pérdidas. En tal sentido, en el presente trabajo de tesis en primer término se decidió, caracterizar desde el punto de vista bioquímico el proceso de desensamblaje de pared celular de peras Bartlett durante su maduración en el árbol a fin de proveer un esquema que complemente a los estudios parciales realizados hasta la fecha, y en segundo término para identificar algunos cambios específicos en los polisacáridos (tamaño, solubilidad o composición) que pudieran estar relacionados con la aparición de frutos con textura anormal cuando la madurez procede en la planta.

1.3. Factores ambientales en la precosecha

1.3.1. Efecto de factores ambientales en la precosecha sobre la calidad de los frutos

Como mencionamos anteriormente diferencias en las condiciones ambientales y de manejo pueden llegar a provocar grandes variaciones en los procesos de crecimiento y desarrollo de los vegetales (Nunes, 2008). Esto es válido dentro de rangos estrechos de variación, que aún sin provocar una situación desventajosa implican modificaciones en la tasa de reacciones y en la necesidad de aclimatación, así como en situaciones más extremas en los que el/los factores involucrados provocan estrés. El concepto de estrés implica la presencia de un factor externo a la planta, provocado por el medio ambiente cambiante que ejerce una influencia negativa sobre su crecimiento y desarrollo óptimos (Tadeo, 2000). Diversos tipos de estrés pueden afectar los procesos fisiológicos de las plantas. En general los factores estresantes se pueden clasificar en tres grandes grupos: a) físicos, que son atributos del ambiente (temperatura, radiación, viento, sequía, inundación, etc), pueden afectar de manera positiva o negativa a los patrones fisiológicos de las plantas, b) químicos, muchos de los cuales pueden causar estrés si no están comúnmente en el ambiente (plaguicidas, u otra fuente de contaminación antropogénica) o cuando se presentan en concentraciones relativas altas (salinidad, pH), y c) los factores bióticos son los mecanismos de interacción que se producen entre especies o poblaciones (plagas y enfermedades) (Nielsen y Oreutt, 1996).

La radiación, la temperatura, los vientos y la disponibilidad de agua son los principales factores físicos de precosecha que afectan a los frutos y los predisponen a desarrollar desórdenes fisiológicos, e inciden en mayor o menor medida según la

especie y cultivar evaluados, la posición del fruto en el árbol, la carga de frutos del árbol, la nutrición mineral, la disponibilidad de hidratos de carbono durante el crecimiento, y el balance de agua (Benítez *et al.*, 1993; Ferguson, *et al.*, 1999; Kays, 1999; Sams, 1999; Wolf *et al.*, 1999; Mattheis y Fellman, 1999; Wolf y Ferguson, 2000; Murray *et al.*, 2005). Debido a que la producción frutícola del Alto Valle de Río Negro se realiza mediante riego artificial, no se considerarán aquí aquellos problemas relacionados con la disponibilidad de agua, como sequía e inundación. Tampoco se evaluará en el presente trabajo el efecto de los vientos, ya que el daño que produce es mecánico, y afecta solamente la apariencia de los frutos.

1.3.1.1. Temperatura

Las altas temperaturas son un factor de estrés que afecta la productividad de los cultivos (Klueva *et al.*, 2001). La exposición de un organismo u órgano vegetal a temperaturas elevadas (generalmente 10 °C o más por sobre la temperatura óptima de crecimiento) por un período de 15 minutos a unas pocas horas, induce en dicho organismo respuestas de estrés (Brodli, 1990). Los daños por alta temperatura pueden resultar de una exposición crónica por días o semanas a niveles térmicos entre 30 y 40 °C, o exposiciones agudas, de corta duración, a temperaturas aún más elevadas (Steponkus, 1981).

La transpiración es un mecanismo homeostático que contribuye a regular la temperatura. De hecho, la susceptibilidad de los frutos a las altas temperaturas se ve exacerbada por condiciones que disminuyen la transpiración tales como el déficit hídrico (Kays, 1999). Dada la mayor relación superficie volumen, las hojas presentan un mayor potencial evaporativo y con ello una capacidad más elevada de refrigeración que

los frutos. Esto explica por qué en los frutos se registran valores tan elevados de temperatura (Woolf *et al.*, 2000).

Debido a las altas temperaturas que normalmente tienen lugar en el campo durante el ciclo del cultivo, la pulpa alcanza valores de hasta 15 °C por encima a la temperatura del aire. Esto ha sido observado por diferentes autores en numerosas especies frutales como paltas (Woolf *et al.*, 1999), manzanas (Parchomchuk y Meheriuk, 1996; Ferguson *et al.*, 1998; Raffo, 2004) y tomates (Schroeder, 1965) y ocurre con mayor frecuencia en zonas templadas con climas secos. Se ha indicado que las peras se cuentan entre las especies de frutos más susceptibles a las altas temperaturas (Shewfelt, 1986). Las fluctuaciones diarias y estacionales de temperatura afectan tanto a la tasa de crecimiento de los frutos como a su calidad (Woolf *et al.*, 1999; 2000).

Las elevadas temperaturas en precosecha causan un gran número de desórdenes que alteran la apariencia de los frutos, y el nivel de daño que producen depende directamente del valor de temperatura alcanzado y del tiempo de exposición, y es variable según la especie, cultivar y estado de desarrollo del fruto. Se suele observar además un diferencial térmico entre los frutos que se encuentran expuestos a la luz y los que están sombreados, y también un gradiente térmico entre la sección expuesta y la no expuesta (Woolf y Ferguson, 2000; Raffo, 2004).

Con respecto a las respuestas que las altas temperaturas provocan en los vegetales se conoce que las mismas son variadas y dependen de la condición a la que hayan sido sometidos los frutos. En la medida que las temperaturas se incrementan por encima del nivel óptimo comienzan a observarse modificaciones en el proceso de maduración. El proceso de crecimiento y maduración de los frutos requiere de la síntesis de ARNm específicos (Picton y Grierson, 1988) y las temperaturas elevadas provocan una reducción en la expresión de numerosos genes y una reprogramación de la

maquinaria transcripcional (Nover, 1991) tendiente a activar mecanismos de defensa al estrés por calor como las proteínas de choque térmico (Biggs *et al.*, 1988; Picton y Grierson, 1988). Del mismo modo, el estrés térmico puede inducir la expresión de genes involucrados en la protección contra el estrés oxidativo (Morgan *et al.*, 1986; Liu y Thiele, 1996; Mc Dufee *et al.*, 1997). Asimismo se reduce la traducción de ARNm no vinculados con la respuesta al estrés (Nover *et al.*, 1989; Nover 1991) y puede verse disminuida la síntesis *de novo* de proteínas en general (Civello *et al.*, 1997).

Si las condiciones son aún más drásticas se observa un aumento en la fuga de electrolitos tanto en frutos unidos como separados de la planta (Inaba y Crandall, 1988), lo que ha permitido sugerir que podría ocurrir un daño en la funcionalidad de membranas (Schrader, *et al.*, 2001). El daño directo causado por estrés térmico puede involucrar además a proteínas y ácidos nucleicos. Los efectos indirectos sobre la apariencia incluyen la inhibición de la síntesis de pigmentos (Blankenship, 1987, Li *et al.*, 2004), degradación de los pigmentos existentes y daños por asoleamiento de diversa severidad (Merzlyak *et al.*, 2002). En este sentido son pocos los trabajos que estudiaron los efectos de la temperatura de precosecha sobre la firmeza de frutos y el metabolismo de la pared celular (Opara y Tadesse, 2000; Woolf y Ferguson, 2000).

1.3.1.2. Radiación

La radiación es uno de los factores ambientales más importantes en el desarrollo de los árboles frutales. Esto no solo se debe a su importancia para el desarrollo vegetativo y actividad fotosintética sino para la clara influencia que posee sobre la calidad de los frutos. La luz es un objetivo constante en el estudio de la arquitectura de la copa de los árboles frutales, por su rol en la fotosíntesis, su influencia en el desarrollo

de la morfología de las hojas, su efecto sobre la diferenciación floral y cuaje de frutos, y su importancia en el desarrollo y calidad de los frutos (Rom, 1991).

La luz incidente dentro de la copa del árbol favorece los procesos de inducción floral produciendo un cambio metabólico dentro de la yema, regulando la cantidad y la calidad de las estructuras florales del próximo ciclo vegetativo (Lauri, *et al.*, 1997, 1998; Wünsche y Lakso, 2000). Por otro lado, una menor intensidad de luz aumenta la caída de frutos de manzanos de entre 8-30 mm de diámetro (Byers, *et al.*, 1991). Al mismo tiempo el sombreado de la copa de los árboles produce una disminución de la fotosíntesis (Burnside y Bhöning, 1957; Rom, 1991), la floración (Lauri, *et al.*, 1996), el cuaje de fruta (Lauri, *et al.*, 2004), y aumenta la susceptibilidad a enfermedades durante el almacenamiento (Flore y Lakso, 1989).

En cuanto a la influencia de la luz en relación a la depreciación de la calidad de los frutos, se sabe que niveles bajos de radiación pueden disminuir la coloración superpuesta en manzanas rojas al incrementar los niveles de glicósidos de la quercetina y otros flavonoides en detrimento de las antocianinas (Proctor y Loughheed, 1976; Awad *et al.*, 2001; Reay y Lancaster, 2001). Además de la reducción en la formación del color debida a una menor disponibilidad de luz, numerosos autores registraron una reducción del tamaño de los frutos así como, del contenido de sólidos solubles y de almidón en manzanas rojas (Seeley *et al.*, 1980; Robinson *et al.*, 1983; Tustin *et al.*, 1988; Campbell y Marini, 1992). En manzanas cv. Granny Smith el peso promedio y el contenido de sólidos solubles aumenta en aquellos frutos ubicados en la parte alta y expuesta de los árboles, mientras que por el contrario, el color de fondo se mantiene más verde en los frutos que se encuentran en la parte inferior e interior de la copa del árbol (Tustin *et al.*, 1988). En duraznos, Lewallen y Marini (2003) determinaron cambios en la coloración de la piel en frutos con distinta exposición a la luz solar,

mientras que en ciruelos Murray *et al.* (2005) establecieron que frutos con un tratamiento de sombreado a campo presentaron un retraso en la maduración y menor color de fondo y de piel que los frutos que crecieron con un nivel superior al 70% de la radiación incidente. Asimismo, los frutos que crecían con diferentes niveles de radiación mostraron mayor desuniformidad en la maduración e inconvenientes para la conservación y comercialización. En paltas y en manzanas, se determinó un mayor contenido de materia seca en los frutos que se desarrollaron con exposición directa a la luz solar respecto de aquéllos que lo hicieron a la sombra, y dentro de los frutos expuestos, la sección más iluminada presentó también niveles superiores de materia seca que la menos iluminada (Brooks y Fisher, 1926; Woolf *et al.*, 1999).

También la influencia de la luz ha sido muy estudiada en relación a la depreciación de la calidad de los frutos. En efecto, la exposición del fruto a la luz solar intensa (radiación electromagnética) a menudo da por resultado el daño conocido como asoleamiento o golpe de sol (Lurie *et al.*, 1991; Sams, 1999) que probablemente se deba a un efecto combinado de la radiación solar intensa y elevadas temperaturas de la pulpa. El asoleamiento está asociado con la pérdida de calidad de las manzanas ‘Braeburn’ (Watkins *et al.*, 1993) y ha sido informado por numerosos autores en diversos cultivos (Wade *et al.*, 1993; Doods *et al.*, 1997; Yuri, *et al.*, 2000a, 2000b; Schrader *et al.*, 2001; Raffo e Iglesias, 2004), produciendo pérdidas económicas importantes. Más allá de esto, en condiciones menos drásticas en las que los tejidos no son dañados se ha informado que un incremento de la exposición a la luz solar aumenta la firmeza en manzanas (Shaw y Rowe, 1982). Se ha registrado una mayor firmeza en el lado expuesto al sol de manzanas cv. Pacific Rose (Opara y Tadesse, 2000) y cv. McIntosh (Studman *et al.*, 1997), como así también en paltas (Woolf *et al.*, 1999, Woolf y Ferguson, 2000). En peras cv. Bartlett, la zona del sonrojo –que presenta mayores niveles de firmeza– es a

menudo evitada al momento de efectuar registros de dicho índice, a fin de estandarizar el procedimiento y minimizar variaciones (Trincherro *et al.*, 2004), especulando que esto se podría deber a diferencias en la forma y tamaño de las células.

La mayor parte de los estudios mencionados muestran un claro efecto de la radiación sobre la producción, acumulación de azúcares, pigmentos antioxidantes y otros compuestos bioactivos. Para muchos de estos componentes se ha estudiado los mecanismos involucrados en los cambios observados con un buen nivel de detalle, a punto tal que se conoce en ciertos casos los genes que son activados en las vías metabólicas afectadas por las condiciones ambientales en precosecha. Con respecto a la influencia de la radiación sobre la firmeza, si bien numerosos trabajos mostraron variaciones (Studman *et al.*, 1997; Woolf *et al.*, 1999; Opara y Tadesse, 2000; Woolf y Ferguson, 2000) los mecanismos involucrados en estos cambios han recibido mucha menos atención. Las causas que podrían estar involucradas en los cambios de firmeza como consecuencia de la exposición solar diferencial de los frutos, incluyen modificaciones en la estructura y composición de las paredes celulares, y podrían incluir alteraciones en los niveles de turgencia o bien cambios estructurales en los tejidos (Opara *et al.*, 1997). Llamativamente estos no han sido aún bien determinados (Woolf *et al.*, 2000). Por tal motivo, en el marco de este trabajo de tesis procuramos estudiar la influencia de la exposición solar sobre la composición y estructura de peras Bartlett tanto al momento de la cosecha como luego de un período de almacenamiento.

No es sencillo separar a campo los efectos que ejercen la radiación de los ocasionados por las altas temperaturas y en algunos casos puede poseer poco sentido desde el punto de vista tecnológico. Esto es debido a que generalmente existe una correlación positiva entre ambos factores, observándose que frutos más expuestos presentan valores superiores tanto de temperatura como de radiación total recibida

(Ferguson *et al.*, 1998). Asimismo, dentro de lo que se engloba como radiación, existen diferentes regiones espectrales con efectos fisiológicos diferenciales sobre los vegetales, que reciben dentro del espectro solar, cantidades apreciables de radiación infrarroja y ultravioleta. La radiación ultravioleta (200-400 nm de longitud de onda), es altamente energética y sus niveles han aumentado en los últimos años debido a la disminución de la concentración de la capa de ozono. Frohnmeyer y Staiger (2003) enumeraron las diferentes respuestas de las plantas frente a la radiación UVB (280-320 nm), sin considerar a la radiación UVC (200-280 nm), debido a que esta última es absorbida completamente por los gases atmosféricos, y a la UVA (320-400 nm) que es la menos perniciosa. Se han atribuido efectos benéficos a los tratamientos efectuados en poscosecha con radiación UV, sobre diversos frutos o partes de ellos como: la inducción de mecanismos de defensa (Lutz *et al.*, 2005), aumento de color y capacidad de conservación (Bosiouny, 1998), mejora de las propiedades nutricionales debido al incremento de los niveles de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante (Cisneros-Zevallos, 2003; Liu *et al.*, 2011); e inactivación de enzimas relacionados con los procesos de maduración y senescencia (Lu *et al.*, 1991).

Por otra parte, existen numerosos trabajos realizados en laboratorio donde se confirma la efectividad de la radiación UVC aplicada en poscosecha para mejorar la conservación de diferentes especies de frutos (Nigro *et al.*, 1998; Maharaj *et al.*, 1999; Barka *et al.*, 2000; Lammertyn *et al.*, 2003; Marquenie *et al.*, 2003; Vicente *et al.*, 2004, 2005; Kinay *et al.*, 2005; López-Rubira *et al.*, 2005).

Con el objetivo de comenzar a segregar los efectos observados en la calidad de los frutos asociados con diferencias en la temperatura de los frutos o con diferentes regiones en el espectro electromagnético, se decidió caracterizar los cambios en la firmeza y composición de la pared celular de peras Bartlett en presencia de películas

capaces de reducir la radiación total recibida pero sin provocar cambios importantes en la temperatura de pulpa; y por otra parte analizar las respuestas en el caso de materiales capaces de filtrar selectivamente la radiación UVB.

1.3.2. Efecto de factores ambientales en la precosecha sobre el comportamiento poscosecha de frutos

Son pocos los desórdenes poscosecha de frutas que son completamente independientes de los factores de precosecha. Incluso la incidencia de fisiopatías típicas del almacenamiento, como las producidas por bajas temperaturas o por alta concentración de CO₂ durante el proceso de conservación, se ven modificadas por las condiciones ambientales precosecha y las prácticas de manejo de los montes frutales. Los factores que afectan el desarrollo de los frutos y se asocian a los desórdenes fisiológicos poscosecha, se relacionan generalmente con la posición de los frutos en el árbol y con los parámetros ambientales (Ferguson *et al.*, 1999). Ejemplos de éstos son la interacción entre la posición y la nutrición, y las respuestas de los frutos a los cambios de temperatura por diferente grado de exposición. El calcio es el nutriente que más comúnmente se relaciona a desórdenes fisiológicos poscosecha, y sus deficiencias están asociadas a la ocurrencia de *bitter pit* en manzanas (Ferguson y Watkins, 1989), ablandamiento de pulpa en papayas (Qiu *et al.*, 1995) y conjuntamente con un exceso de potasio, a la podredumbre apical en tomate (Ho *et al.*, 1993). La respuesta de los frutos a las condiciones de conservación como bajas temperaturas, bajos niveles de O₂ y alta concentración de CO₂, estarían condicionadas por las condiciones de crecimiento en precosecha (Ferguson *et al.*, 1999).

1.3.2.1. Conservación con bajas temperaturas

La refrigeración es el proceso por el que se reduce la temperatura de un espacio determinado, por debajo de la temperatura ambiente con el fin de conservar los alimentos, evitando el crecimiento de microorganismos e impidiendo procesos químicos o biológicos no deseados que podrían tener lugar a temperaturas superiores. Sin embargo su utilización en muchos productos se ha encontrado con limitaciones, como resultado de la sensibilidad de los frutos a las bajas temperaturas. La susceptibilidad al daño por frío depende de la especie considerada. Así en general frutos tropicales y subtropicales suelen mostrar menor tolerancia a las bajas temperaturas. Asimismo dentro de una especie considerada se observan marcadas diferencias entre cultivares (Kader, 2002). Por otra parte se ha descrito repetidamente que los factores precosecha pueden afectar en forma significativa la tolerancia de los frutos al daño por frío. La exposición de paltas a la radiación durante su crecimiento en el campo, presenta grandes efectos en el desempeño poscosecha de los frutos y explican algunas de las variaciones encontradas en las paltas después de la cosecha en términos de tolerancia a la temperatura alta y baja, tasa de maduración, y resistencia a la infección por enfermedades (Woolf *et al.*, 1999; Woolf y Ferguson, 2000). En manzanas cv. Granny Smith la ocurrencia de bajas temperaturas (<10 °C) previas a la cosecha, disminuyen la susceptibilidad al desarrollo de escaldadura superficial durante la conservación (Thomai *et al.*, 1998), por otra parte la cara no expuesta de las manzanas desarrolla más rápidamente la escaldadura que la cara expuesta, sugiriendo una relación entre la intensidad de luz y la tolerancia a esta fisiopatía. El corazón acuoso, fisiopatía que disminuye la calidad y conservación de las manzanas, también está directamente relacionado con las temperaturas de los frutos en el árbol (Yamada *et al.*, 2004). Aún en

especies poco sensibles al almacenamiento a bajas temperaturas como el kiwi, la mayor exposición a la radiación resulta en frutos que pueden almacenarse por períodos más prolongados (Gerasopoulos y Drogoudi, 2005).

1.3.2.2. Conservación con atmósferas controladas

La refrigeración en el rango de -1 y 0 °C para la conservación de frutos es utilizada junto con otras tecnologías como las atmósferas controladas (AC) para aumentar el período de conservación. La eficacia de esta tecnología es variable, observándose por ejemplo, que las diferentes localidades en que se desarrollan los frutos condicionan la calidad final y la vida en estante de peras almacenadas en atmósfera controlada (Galvis-Sánchez *et al.*, 2004). En peras D'Anjou y luego de 8 meses de conservación, el aumento de la temperatura media de aire en el campo produjo un incremento en el porcentaje de frutos con escaldadura superficial (Mellenthin y Wang, 1976). En manzanas, existen recomendaciones específicas de conservación que están ajustadas según el cultivar y la zona de producción. Sin embargo, aún dentro de estas condiciones específicas de almacenamiento en AC, se observan respuestas diferentes según sean las características climáticas de cada temporada, la posición de los frutos en el árbol, y las distintas prácticas culturales y técnicas de cosecha que tuvieron los frutos (Saltveit, 2003).

1.4. El etileno en la maduración de peras: efectos, utilización e inhibición de su acción

El etileno (C_2H_2) es una hormona producida por vegetales y algunos microorganismos, que inicia y coordina los principales cambios que se producen durante la madurez de frutos climatéricos. Los parámetros que se modifican con la madurez como la firmeza (Haji *et al.*, 2003; Hiwasa *et al.*, 2003), el color (Flores *et al.*, 2001) y la producción de aromas, dependen fuertemente del etileno (Rupasinghe *et al.*, 2000; Flores *et al.*, 2001; Alexander and Grierson, 2002). Una vez que este proceso se desencadena la concentración de etileno se eleva hasta saturar los receptores (Salveit, 1999).

La vía de síntesis del etileno se inicia desde la metionina, a *S*-adenosil-metionina (SAM) y ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), siendo este último el precursor inmediato del etileno (Yang y Hoffman, 1984). Este proceso está gobernado por la acción de enzimas, siendo ACC sintasa (ACS) y ACC oxidasa (ACO) los más relevantes.

Los tratamientos con etileno en frutos pueden utilizarse para mejorar la calidad de los productos, ya que promueven la maduración más rápida y uniforme antes de la distribución para su comercialización (Salveit, 1999). Las concentraciones de etileno requeridas para la maduración de diferentes productos se ubican en un rango de 0,1 a 1 ppm. De todos modos, en forma práctica se suelen utilizar 20-100 ppm. La temperatura apropiada para la maduración de frutos con etileno es de 20 °C (Kader, 2002). La duración de los tratamientos en términos generales varía de 1 a 3 días. Resulta favorable el uso de circuladores de aire en las cámaras de maduración para permitir un contacto apropiado de los productos con el etileno (Salveit, 1999). No obstante, el aumento de la velocidad del aire determina que la humedad relativa deba ser elevada (80-95 %) para evitar que los productos se deshidraten en demasía. Es recomendable mantener en CO_2

por debajo del 1%. El etileno puede ser obtenido a partir de tubos en los que se encuentra presurizado.

En ciertos casos se desea reducir la tasa de maduración de los frutos o la incidencia de algunos desórdenes fisiológicos por lo que se requiere controlar la producción o acción de esta hormona. El etileno ambiental puede ser producido tanto de forma biológica como no biológica. Las fuentes no biológicas pueden ser la combustión incompleta de combustibles fósiles y la quema de desechos agrícolas (Kader, 2002). Las estrategias para evitar la producción biológica de etileno incluyen minimizar los golpes y el tiempo hasta la comercialización (Abeles *et al.*, 1992). La eliminación de restos de cosecha y frutos dañados en plantas de empaque y procesamiento es otra medida eficaz para la eliminación de fuentes innecesarias de etileno (Salveit, 1999). Otro aspecto importante es la eliminación de productos con infecciones o dañados.

La eliminación de etileno de cámaras de almacenamiento se puede realizar mediante una ventilación apropiada (Salveit, 1999). Otra alternativa es el uso de generadores de ozono para oxidar al etileno, estos generadores mantienen bajos niveles de ozono (0,1 ppm) y pueden a su vez ser utilizados para el control de microorganismos. En frutos envasados se pueden utilizar diferentes compuestos capaces de oxidar y/o absorber al etileno, como el carbón activado, bentonita, sílica gel, celite, vermiculita, perlita y óxidos de aluminio (Kader, 2002). En ciertos casos, los adsorbentes se combinan con otros compuestos capaces de destruir el etileno: así por ejemplo, se han utilizado carbón activado y otros adsorbentes impregnados con oxidantes como permanganato de potasio. Los productos más comunes poseen un 4-6 % p/p de KMnO_4 y para ser efectivo, el permanganato debe absorberse en soportes que presenten una elevada relación superficie-volumen. En la medida en que el permanganato se reduce

los absorbentes toman color marrón por formación de dióxido de manganeso, lo que permite estimar la capacidad remanente de eliminación.

La inhibición de la acción del etileno puede realizarse manipulando adecuadamente la atmósfera de almacenamiento, seleccionando cultivares con poca sensibilidad o bien mediante el uso de químicos apropiados. La refrigeración más allá de disminuir la biosíntesis de etileno reduce la sensibilidad a este compuesto, por lo tanto, es recomendable enfriar los productos rápidamente luego de la cosecha y almacenarlos a la temperatura adecuada (Abeles *et al.*, 1992). El CO₂ también es un inhibidor competitivo del etileno por lo que las atmósferas modificadas más allá de su rol sobre la tasa respiratoria y la producción de etileno pueden reducir su acción (Kader, 2002). La utilización de cultivares adecuados puede ser también una estrategia para evitar cambios indeseables ocasionados por el etileno. Por último, las estrategias químicas basadas en el uso de inhibidores de la acción del etileno incluyen al alqueno cíclico 1- metilciclopropeno (1-MCP).

El 1-MCP es un efectivo antagonista de la acción del etileno (Blankenship y Dole, 2003) y presenta un gran potencial para extender la vida poscosecha de diferentes productos vegetales (Sisler y Serek, 1999; 2003; Watkins, 2006; Sozzi y Beaudry, 2007). Al bloquear los receptores de etileno, el 1-MCP protege tanto de la acción del etileno endógeno como exógeno (Sisler, 2006). Al retrasar los procesos senescentes y algunos desórdenes fisiológicos de los vegetales, se prolonga la vida útil de los productos y se facilita el almacenamiento, transporte y comercialización (Selvarajah *et al.*, 2001; Pesis *et al.*, 2002; Calvo y Sozzi, 2004; Candán *et al.*, 2006; Manganaris *et al.*, 2007). Una de las ventajas que ofrece este producto, es que es efectivo a muy bajas concentraciones, para las que no se han observado riesgos elevados de toxicidad en

humanos y animales y solo podría ocasionar efectos nocivos a altas e inusuales concentraciones.

El 1-MCP se comercializa en forma de polvos y su nombre comercial es SmartFresh®. El principio activo se encuentra asociado en la formulación a una matriz de γ -ciclodextrina, pero se libera en forma gaseosa tras la disolución del polvo en agua (Blanquenship y Dole, 2003). Dicha liberación ocurre en condiciones normales entre 20 y 30 minutos. Las concentraciones que se han utilizado son variadas, pero en general se ubican entre 0,1 y 1 $\mu\text{L L}^{-1}$. A fin de realizar las aplicaciones, los productos se confinan en una atmósfera donde se libera el 1-MCP por 12 a 24 hs. Con respecto a la temperatura de aplicación se han realizado tratamientos exitosos en el rango de 4 a 20 °C. Los efectos hallados dependen del producto considerado, del cultivar y del estado de madurez. En general se ha evaluado en mayor medida su aplicación en frutos climatéricos en los que el etileno posee un rol fundamental regulando la maduración.

Las peras europeas se encuentran dentro de las especies que presentan una buena respuesta al 1-MCP, aún con dosis pequeñas, si se aplica inmediatamente después de la cosecha (Sozzi y Beaudry, 2007). Se demostró en peras Bartlett que tratamientos con 1-MCP retrasan la aparición del color amarillo (Trincherro *et al.*, 2004; Ekman *et al.*, 2004). Asimismo disminuye las mermas de calidad de las peras, con una menor incidencia de desórdenes relacionados con la senescencia y los daños por frío (Calvo, 2008). La eficacia de los tratamientos depende de la concentración del producto, el grado de madurez de la fruta y la duración de la conservación. Con respecto a la influencia del estado de madurez, es claramente mayor el efecto observado cuando las aplicaciones se realizan en estados tempranos. A medida que los tratamientos se retrasan, hay un consecuente menor efecto debido a numerosos procesos vinculados a la maduración que ya se han iniciado (Watkins, 2006). En aplicaciones muy tempranas, la

detención de la maduración puede ser tan marcada que pierde sentido la aplicación desde una perspectiva comercial debido a que los productos requieren excesivo tiempo para alcanzar la madurez óptima de consumo. A pesar de que, como se mencionó anteriormente, las peras ‘Bartlett’ han demostrado presentar una respuesta favorable a la aplicación de 1-MCP (Baritelle *et al.*, 2001; Calvo, 2003; Ekman *et al.*, 2004; Trincherro *et al.*, 2004, Calvo, 2008), se han observado diferencias sustantivas en la respuesta. El efecto del 1-MCP sobre la madurez de peras Bartlett no fue uniforme en un lote con similares características de madurez y se ha sugerido que podrían relacionarse con diferencias atribuibles a factores de precosecha (Trincherro *et al.*, 2004). Si bien se registró que el efecto de 1-MCP sobre la madurez de las peras Bartlett no fue uniforme en un lote con similares características de madurez, no se determinó el motivo de dicha observación (Trincherro *et al.*, 2004).

El grado de incidencia de la radiación y su interacción con la temperatura, sobre la eficacia de muchos tratamientos poscosecha en general y en la de los tratamientos con 1-MCP en particular no se conoce. En tal sentido se estudió la influencia de la exposición solar en precosecha sobre la eficacia de tratamientos con 1-MCP en poscosecha.

1.5. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

1.5.1. Las hipótesis de trabajo fueron las siguientes:

- 1- La maduración de peras Bartlett en planta provoca cambios en la pared celular que se asocian con alteración en el desarrollo de una textura característica del cultivar (jugoso y fundente).

- 2- La exposición solar de peras Bartlett en la precosecha afecta la firmeza de los frutos al momento de cosecha y luego de su maduración durante el almacenamiento, y esto se asocia con cambios en la composición y desensamblaje de la pared celular.
- 3- Los efectos de la exposición solar en la precosecha sobre la textura de peras Bartlett se debe principalmente a diferencias en la temperatura y radiación visible recibida por los frutos durante el desarrollo y no así a la radiación UVB que posee influencia sobre otros atributos como el desarrollo de antocianinas.
- 4- La exposición solar en precosecha aumenta marcadamente la eficacia de los tratamientos poscosecha con el inhibidor de la acción del etileno 1-MCP en peras Bartlett.

1.5.2. Objetivo general:

El objetivo general del presente trabajo fue profundizar en el conocimiento sobre los mecanismos que causan la pérdida de firmeza de peras cv. Bartlett y los factores de pre-cosecha que la afectan.

1.5.3. Objetivos específicos:

- 1- Determinar a partir del momento óptimo de cosecha y durante tres diferentes estadios aptos para el consumo, las modificaciones de la calidad, textura y composición de pared celular en diferentes zonas del fruto (piel y pulpa).

2- Determinar el efecto de la exposición solar en precosecha sobre la calidad, la firmeza en cosecha, el ablandamiento y la degradación de pared celular de pera cv. Bartlett.

3-Analizar la influencia de la radiación visible y UVB en precosecha sobre la calidad y ablandamiento poscosecha de pera cv. Bartlett.

4) Establecer si la eficacia de tratamientos durante la poscosecha con 1-metilciclopropeno (1-MCP) se ve incrementada por las diferencias de temperatura y radiación solar recibida por los frutos de peras cv. Bartlett.

Capítulo 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material vegetal

Se trabajó en un monte comercial de perales de 16 años de edad plantado con el cv. Bartlett, injertados sobre pie franco, pertenecientes a la EEA Alto Valle del INTA, ubicado en la localidad de Contralmirante Guerrico, provincia de Río Negro (39° 01' 00" S; 67° 40' 00" W; altitud 242 m.s.n.m.) (Figura 2.1).

Los perales están conducidos en espaldera, con una distancia de plantación de 4 m entre filas por 4 m entre plantas, y una orientación Este-Oeste. El manejo sanitario y nutricional del monte se realizó de acuerdo al manejo comercial estándar que se realiza en la zona para ese cultivar y el riego se efectuó mediante equipo presurizado utilizando micro aspersores.

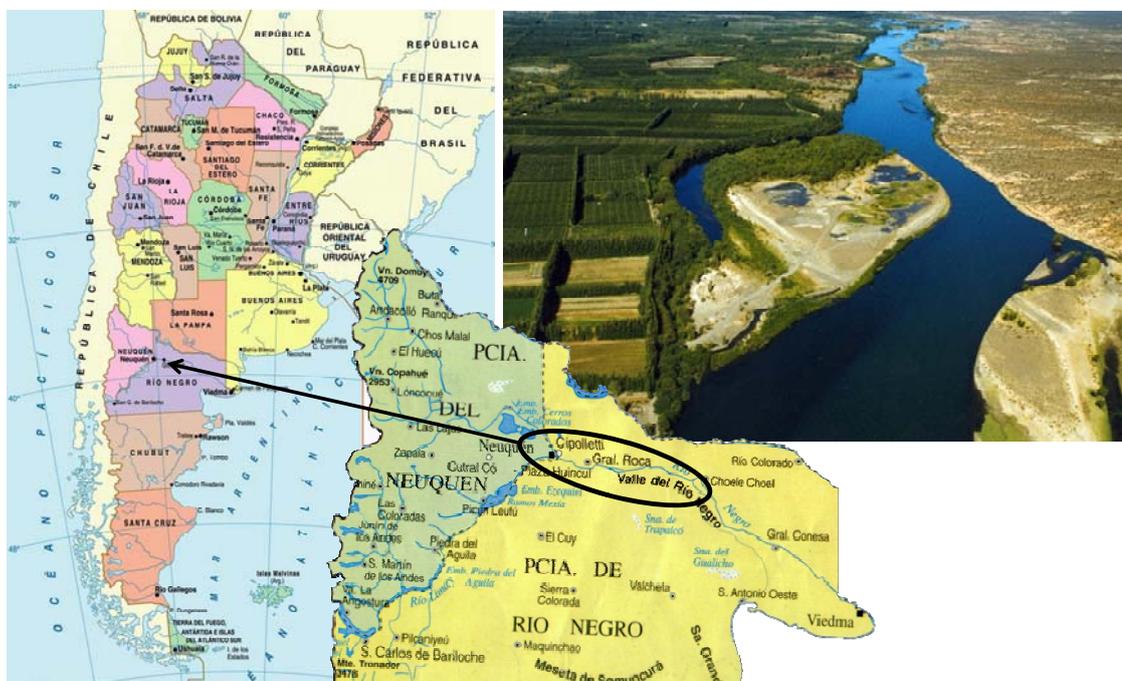


Figura 2.1. Región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, y ubicación de la localidad de Contralmirante Guerrico.

2.1.1. Ensayo 1. Efecto de la maduración de peras Bartlett en el árbol, sobre la calidad y degradación de pared celular de la pulpa y piel de los frutos

Para el estudio de los cambios en la pared celular durante la ontogenia de los frutos, se utilizaron 20 árboles del monte descrito anteriormente. Los árboles se seleccionaron según homogeneidad en cuanto al vigor y la carga frutal. Los frutos se cosecharon al azar de la sección Norte de los árboles a una altura media (0,5–1 m desde el tronco y 1,75 m sobre el suelo) a fin de estandarizar el procedimiento de muestreo.

Se realizaron 5 fechas de muestreo, comenzando 40 días post anthesis (DPA) correspondiente a la fase de división celular y luego a los 20 días de este primer muestreo, durante la fase de expansión celular.

Una vez alcanzados los índices de madurez óptimos para la cosecha de esta variedad, se continuó con la toma de muestras en el campo según valores de firmeza promedio de los frutos, completando los 3 muestreos finales que coincidieron con: estado de madurez temprana (MT), madurez media (MM) y madurez avanzada o sobre madurez (SM). Finalmente se realizó la extracción y el fraccionamiento de la pared celular y se determinó la composición de azúcares neutros, se cuantificaron los azúcares totales y los ácidos urónicos y se efectuó un perfil del tamaño molecular.

2.1.2. Ensayo 2. Efecto de radiación solar recibida sobre la calidad y degradación de pared celular de los frutos

A fin de determinar si la radiación solar y las temperaturas elevadas afectan la firmeza de las peras y la constitución de su pared celular, se utilizaron 10 árboles. Dos

se emplearon para muestrear frutos con el fin de determinar el momento óptimo de cosecha del ensayo. En 4 de los 8 árboles restantes se marcaron los frutos ubicados en la sección Norte del árbol, a una distancia del suelo de entre 2 - 2,5 m y 1 m desde el eje central del árbol a ambos lados, en los otros 4 se marcaron frutos en la cara Sur de los árboles, tomando la precaución de que no recibieran radiación solar directa en ningún momento del día. Se realizaron los siguientes tratamientos: (1) Sol, frutos con exposición a la luz solar directa, (2) Sombra, utilizando frutos de interior del canopeo y de la sección sur de los árboles.

Los frutos se cosecharon con estadio de madurez óptimo (ver más adelante) y se evaluaron a cosecha y a los 13 días después de la cosecha (DDC) en laboratorio, los siguientes índices de madurez: firmeza y color. Finalmente se realizó la extracción y fraccionamiento de la pared celular y se determinó la composición de azúcares neutros, se cuantificaron los azúcares totales y los ácidos urónicos y se efectuaron los perfiles del tamaño molecular.

2.1.3. Ensayo 3. Efecto de radiación PAR y UVB sobre la calidad y ablandamiento de los frutos

A fin de segregar los efectos de las diferentes regiones del espectro electromagnético sobre la firmeza de las peras, se realizaron dos tratamientos en los que se colocaron películas plásticas. Se utilizaron un total de 10 árboles, dos se emplearon para muestrear frutos con el fin de determinar el momento óptimo de cosecha del ensayo. En los 8 restantes se marcaron los frutos ubicados en la sección Norte del árbol, a una distancia del suelo de entre 2 - 2,5 m y 1 m desde el eje central del árbol a ambos lados. Se realizaron dos tratamientos en cuatro árboles cada uno: (1) Mylar-D, cobertura

de frutos expuestos a la luz solar con una película que impide el paso de la radiación UVB de longitud de onda inferior a 310 nm (Mylar-D, DuPont, Wilmington, DE, 0,1 mm de espesor), (2) Stretch, cobertura de frutos expuestos a la luz solar con una película con transmitancia elevada a la luz UVB (Stretch Bemis Co. Minneapolis; 0.025 mm de espesor). Las películas se colocaron en el campo 30 DPA y permanecieron hasta el momento de cosecha, mediante bastidores metálicos sujetos con postes enterrados a ambos lados de cada planta, de manera que las películas cubrieran la parte central y superior de cada árbol (un total de 75 frutos aproximadamente para cada repetición).

Los frutos se cosecharon con estadio de madurez óptimo (ver más adelante) y se evaluaron en el laboratorio a cosecha y a los 13 días después de la cosecha (DDC), la firmeza y el color de la piel.

2.1.4. Ensayo 4. Efecto de radiación visible y UVB sobre la eficacia de tratamientos poscosecha con el inhibidor de la acción del etileno 1-MCP

El 1-metilciclopropeno (1-MCP), se aplicó con el objetivo de evaluar su eficacia sobre frutos con diferentes grados de exposición a la luz y a condiciones de altas temperaturas en precosecha, utilizándose peras provenientes de los tratamientos explicados en los ensayos 2 y 3: (1) Sol, exposición a la luz solar directa; (2) Sombra, utilizando frutos de interior de la copa de los árboles canopeo y de la sección sur de los árboles; (3) Mylar-D, cobertura de frutos expuestos a la luz solar con una película que impide el paso de la radiación UVB de longitud de onda inferior a 310 nm y (4) Stretch, cobertura de frutos expuestos a la luz solar con una película con transmitancia elevada a la luz UVB.

De cada tratamiento precosecha, se separaron cuatro lotes de 20 frutos cada uno, a los que se les aplicó 1-MCP a una dosis de $0,4 \mu\text{l L}^{-1}$. Para efectuar las aplicaciones de este producto se dispuso a los frutos de cada tratamiento en contenedores de $75 \times 75 \times 150 \text{ cm}$ ($0,86 \text{ m}^3$), posteriormente, se colocaron frascos con cantidades medidas de SmartFresh™ (0,14% ingrediente activo, Rohm & Haas Argentina) que liberó el 1-MCP cuando se le agregó agua a $40 \text{ }^\circ\text{C}$; inmediatamente se sellaron los contenedores herméticamente y se aseguró, mediante el empleo de pequeños ventiladores, una correcta distribución del gas dentro de los mismos. Los frutos permanecieron expuestos al 1-MCP durante 24 h a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ y finalmente, se embalaron en cajas de cartón con dos bandejas y bolsas de polietileno de $30 \mu\text{m}$ de espesor, y se almacenaron a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ para su maduración. Se reservó, embolsó y almacenó, de la misma forma descripta anteriormente, un lote de frutos de cada tratamiento sin tratar con 1-MCP que se utilizó como control.

Los frutos se evaluaron a los 13 y 23 d después de la cosecha (DDC), realizándose en laboratorio las mediciones de firmeza y color. Luego se efectuó la extracción y fraccionamiento de la pared celular y se determinó la composición de azúcares neutros, se cuantificaron los azúcares totales y los ácidos urónicos y se realizaron los perfiles del tamaño molecular.

2.2. Determinación de factores precosecha

Se realizó un análisis de absorbancia de los plásticos empleados a campo frente a todo el espectro lumínico, en el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires, mediante el empleo de un Espectrofotómetro Agilent 8453.

Se midieron la temperatura y la radiación incidente en la cara expuesta y no expuesta en frutos representativos de los diferentes tratamientos durante los meses de Noviembre, Diciembre y Enero hasta el momento de la cosecha. Se utilizaron adquisidores (marca Cavadevice®, Cavadevices, Ciudad de Buenos Aires) equipados con sensores de radiación fotosintéticamente activa (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{seg}^{-1}$) y de temperatura ($^{\circ}\text{C}$). Para efectuar mediciones puntuales de temperatura de piel de los frutos, se empleó una termómetro infrarrojo (Raytek®, Instarg S. A., La Plata). Se realizaron mediciones en 30 frutos por tratamiento en días con temperatura media de aire diferentes.

A fin de caracterizar las condiciones de radiación UVB de la zona, se midieron los valores de radiación UVB (W m^{-2}). Para ello se empleó un radiómetro UVB (Solar Inc, Estados Unidos), adquiriéndose los datos a cada minuto. Este se colocó de manera horizontal, sobre un poste por encima de la copa de los árboles, de manera que el sensor estuviese expuesto directamente a la radiación solar, realizándose mediciones durante todo el día.

Por otra parte también se efectuaron mediciones a campo para comprobar el porcentaje de radiación UVB que retenían las películas de Mylar-D y Stretch; debido a que los paneles empleados no envolvían totalmente a las plantas y a que al estar a la intemperie el depósito de partículas de polvo podría cambiar su transmitancia. Para ello se emplearon bastidores metálicos donde se colocaron las dos películas evaluadas, y se realizaron 20 mediciones afuera (sobre el plástico) y 20 adentro (bajo ambos plásticos) durante diferentes días de la temporada (Fotografía 2.1).



Fotografía 2.1. Bastidores y sensores de radiación PAR y UVB utilizados para determinar el porcentaje de radiación retenido por las películas Mylar-D y Stretch.

De manera simultánea se midió la temperatura del aire, la humedad relativa y radiación global y UVB durante el período de desarrollo de los frutos mediante el empleo de una estación automática Davis, ubicada en el recinto meteorológico de la Estación Experimental Alto Valle.

Una semana antes de la cosecha de los frutos se realizó un muestreo de hojas en los cuatro tratamientos estudiados, con el fin de determinar el efecto de los plásticos sobre el follaje de las plantas. Se recolectaron 30 hojas de brotes de cada árbol, se llevaron al laboratorio y se midió el área foliar (medidor de área foliar LiCor 2000), peso fresco y peso seco luego de secar en estufa a 60 °C hasta peso constante. Posteriormente se calculó el peso específico de las hojas ($\text{mg materia seca cm}^{-2}$).

2.3. Índices de madurez

2.3.1. Determinación del momento óptimo de cosecha

Para los ensayos 2, 3 y 4, se cosecharon las peras a partir del momento en que se determinó el sello específico para la variedad. Los valores promedio para inicio de cosecha en el Alto Valle de Río Negro son 88-93 N de firmeza de pulpa, sólidos solubles mayores a 10 °Brix y degradación del almidón de 20 a 25% (Benítez, 2001). Para determinar la madurez inicial de los frutos, se tomaron de diferentes árboles del monte 40 frutos y se midieron los índices de madurez como se detalla a continuación, considerando a cada fruto como una repetición independiente.

La firmeza, registrada en el campo en calidad de índice de madurez, se determinó midiendo la fuerza requerida para penetrar cada pera mediante un penetrómetro electrónico (Lake City Technical Products, Kelowna, British Columbia, Canadá) dotado de una punta o sonda de 7,9 mm. Se quitó la piel en secciones opuestas en el plano ecuatorial de cada fruto, mediante un corte tangencial poco profundo, la penetración se efectuó hasta una profundidad de 10 mm, se calculó un promedio de esas dos mediciones por cada fruto y se consideró ese promedio como una repetición.

Se realizó la prueba de almidón, tomando una rodaja de 1-1,5 mm de espesor de la zona ecuatorial de cada fruto y se la introdujo en una solución de lugol (yoduro de potasio 10 g L⁻¹ y yodo 5 g L⁻¹) durante 1 min y luego se determinó el porcentaje de degradación de almidón por comparación con tablas varietales de uso internacional publicadas por el 'Centre Technique Interprofessionel des Fruits et Legumes'(Ctifl, 2002).

Para evaluar el contenido de sólidos solubles se retiró una sección longitudinal de cada fruto, de la cual se extrajo el jugo y se analizó el mismo con un refractómetro digital con temperatura autocompensada (PAL-1, Atago Co., Japón).

El color se midió con un colorímetro triestímulo (CR-300, Minolta, Japón), en ambas secciones del fruto (sección expuesta y no expuesta a la radiación solar). Se registraron los valores de L^* (luminosidad), C (*chroma*) y ángulo de matiz o tono (h° , del inglés “hue angle”).

Una vez determinado el inicio de cosecha, según los índices de madurez anteriormente detallados, se procedió a cosechar la fruta de los diferentes tratamientos, se aisló y fraccionó la pared celular y se realizaron en el laboratorio las determinaciones vinculadas a su composición y estructura, como se mencionó anteriormente.

2.3.2. Etileno

En los frutos del ensayo 1, se midió la tasa de producción de etileno por cromatografía gaseosa, utilizando tres lotes de tres frutos sanos y de tamaño uniforme en cada fecha de muestreo. Las mediciones comenzaron a partir de los 95 días post anthesis (DPA) y se realizó con una frecuencia de dos veces por semana. Para ello cada grupo de tres frutos se colocó en frascos de vidrio de 3 L que se cerraron herméticamente y se incubaron durante 30 min a 20 °C. Luego se tomaron muestras de 1 mL del espacio de cabeza mediante una jeringa y se analizó con un cromatógrafo de gases (GC14-A, Shimadzu, Japón) equipado con columna de alúmina activada (40 °C) y detector FID (210 °C). Se utilizó helio como gas portador. Los resultados se expresaron como mL de etileno $g^{-1} h^{-1}$. Se realizaron 3 determinaciones diarias para cada estado de desarrollo analizado, hasta alcanzar el máximo climatérico.

2.3.3. Color

El color se midió con un colorímetro triestímulo (CR-300, Minolta, Japón) en ambas caras del fruto (cara expuesta y no expuesta a la radiación) sobre un total de 10 frutos por repetición. Se midieron los valores de L* (luminosidad), C (*chroma*) y ángulo de matiz (h°) En el ensayo 1 se midió el color a partir de los 95 DPA y con una frecuencia de dos veces por semana. Las mediciones de color en los ensayos 2, 3 y 4 se realizaron al momento de cosecha, a los 13 ó 23 d después de almacenarlos a 20 °C con y sin 1-MCP.

2.3.4. Firmeza

En el ensayo 1 se midió la firmeza a partir de los 95 DPA y con una frecuencia de dos veces por semana mediante un penetrómetro electrónico (Lake City Technical Products, Kelowna, British Columbia, Canadá), dotado de una punta o sonda de 7,9 mm (como se describió en 2.3.1). La firmeza de los frutos de los diferentes tratamientos de los ensayos 2, 3 y 4 se determinó al momento de cosecha, a los 13 o 23 d después de almacenarlos a 20 °C con y sin 1-MCP y a los 23 después de almacenarlos a 20 °C con 1-MCP. Las mediciones se realizaron en ensayos de penetración una vez removida la piel, hasta una profundidad de 10 mm, mediante un equipo Instron Universal Testing Machine (Modelo 4442, Canton, MA, USA), según metodología descrita por Trincherro *et al.* (2004) con ligeras modificaciones. Cada fruto se colocó y aseguró sobre una base de acero y fue punzado dos veces en la región ecuatorial, en la zona expuesta y en la zona no expuesta a la luz (180 ° de diferencia una punción de otra). Para dichas pruebas

de punción se utilizó una punta o sonda de 7,9 mm, operada con una velocidad de 50 mm min⁻¹. Se realizaron 30 determinaciones por tratamiento en la cara expuesta (CE) y no expuesta (CNE), para cada fecha de ensayo.

2.3.5. *Jugo libre*

Se realizó la determinación de jugo libre a los frutos destinados al estudio de la pared celular durante la maduración en planta (Ensayo 1). Para ello se utilizaron 8 frutos para cada momento de maduración: madurez temprana (MT), madurez media (MM) y madurez tardía o sobre madurez (SM). Se procedió al pelado de cada fruto, seccionado en cuatro partes y luego se retiró la parte interna. Se tomaron aproximadamente 50 g de la pulpa y se comprimió con una prensa manual (según lo informado por Crisosto y Labavitch, 2002). El jugo extraído se centrifugó a 3400 rpm durante 10 min y el peso sobrenadante se utilizó para determinar el porcentaje de jugo libre basado en el peso inicial de la muestra de pulpa.

2.3.6. *Análisis sensorial*

Se realizó un análisis sensorial a los frutos que maduraron en planta en los tres estadios de madurez estudiados, previa maduración a 20 °C durante 4 días. Se reclutaron once evaluadores previamente entrenados para el panel sensorial en función de su capacidad para discriminar el sabor y los atributos de aroma de las peras. Se escogieron al azar muestras de veinte frutos de cada estadio de maduración, para ser evaluados por el panel. Luego se seleccionaron once peras para la evaluación sabor y textura (una por cada evaluador). Cada pera fue cortada, en 8 trozos con un cortador de fruta. Cada

panelista recibió dos piezas de los lados opuestos de la misma pera a la vez y se los instruyó para comer sólo la pulpa (ya que los frutos no fueron previamente pelados). Para la determinación del impacto de aroma se colocaron tres frutos sanos de cada fecha de muestreo en frascos de vidrio herméticamente cerrados. Los panelistas abrieron los frascos para percibir el aroma, luego de un encierro mínimo de 10 min. Los caracteres de textura se desarrollaron basándose en el método de perfil de textura desarrollado por Little en 1960 (Civille y Szczesniak, 1973; IRAM 20013, 2001). Los atributos tanto de sabor (impacto de sabor, dulzor, acidez, astringencia y amargor) como de textura (firmeza, crocantez, facilidad de disolución, granulosis y jugosidad) y aroma se midieron utilizando una escala lineal de 0 a 10 en la cual 0 = nada, 10 = extrema.

2.4. Aislamiento y análisis de polisacáridos de la pared celular

2.4.1. Residuo insoluble en alcohol (AIR)

Para el aislamiento de los polisacáridos de la pared celular de los ensayos 1, 2 y 4 se tomaron secciones longitudinales de la pulpa de frutos (sin cáscara) y se conservaron con nitrógeno líquido en ultra frízer a -80 °C hasta su posterior análisis. La toma de muestras de los frutos destinados al estudio de la pared celular durante la ontogenia de cultivo, a partir de la madurez óptima para cosecha, se realizó considerando por separado 2 zonas: 1) piel, con hasta 10 capas de células internas y 2) pulpa (tejido localizado entre la piel y hasta 6 cm de profundidad) (Figura 2.2). Todas las muestras se tomaron de la zona ecuatorial de los mismos frutos. Se utilizaron tres muestras combinadas de 10 frutos cada una para cada fecha.

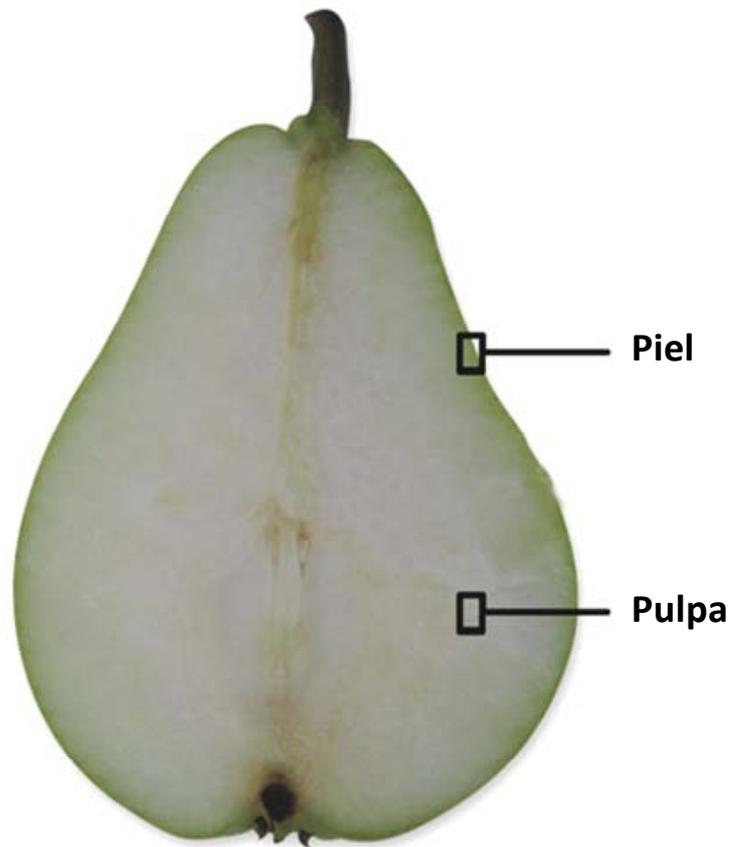


Figura 2.2. Zonas del fruto de donde se extrajeron las muestras para el análisis de pared celular en el Ensayo 1 a partir de la madurez en planta.

El tejido congelado se homogeneizó con 80 mL de etanol 80% en una licuadora y luego con Omnimixer por 30 s. La suspensión resultante se hirvió durante 30 min y se filtró utilizando filtros de fibra de vidrio. El residuo sólido se lavó con etanol 95% v/v. Posteriormente el material retenido en el filtro se suspendió en una solución cloroformo-metanol (1:1, v/v) durante 15 min en agitador. Se filtraron nuevamente las muestras con filtros de fibra de vidrio y el residuo sólido se lavó con acetona hasta decoloración (Huber y O'Donoghue, 1993) y posteriormente se secó en estufa a 38 °C y se pesó para obtener el residuo insoluble en alcohol (AIR). EL AIR se almacenó a temperatura ambiente hasta su uso.

2.4.2. Determinación de Almidón

La determinación del porcentaje de almidón en los residuos insolubles en alcohol (RIA) de todas las muestras, se determinó mediante método enzimático (Karkalas, 1985) con α -amilasa, amilogucosidasa y *o*-dianisidina empleando el kit de Sigma (Saint Louis, MO, USA).

2.4.3. Fraccionamiento de la pared celular

El fraccionamiento de la pared celular se efectuó de acuerdo con protocolos previos, detallados por Sozzi *et al.* (2002) y Brummell *et al.* (2004). Aproximadamente 1 g de RIA se usaron para realizar de manera secuencial las siguientes extracciones: 1) solución acuosa de 100 mL thimerosal 0,02% (p/v) con agitación durante 12 hs a 20 °C; 2) solución de 100 mL ácido trans-1,2-diaminociclohexano-N,N,N',N',-tetracético (CDTA) 0,05 M en NaOAc 0,05 M a pH 6 conteniendo thimerosal 0,02% (p/v) en agitador durante 12 hs; 3) solución de 100 mL Na₂CO₃ 0,1 M conteniendo NaBH₄ 20 mM, con agitación por 12 hs; 4) solución de 100 mL KOH 1 M conteniendo NaBH₄ 20 mM con agitación durante 4 hs; 5) solución de 100 mL KOH 4 M conteniendo NaBH₄ 20 mM con agitación agitador durante 4 hs (Figura 2.3).

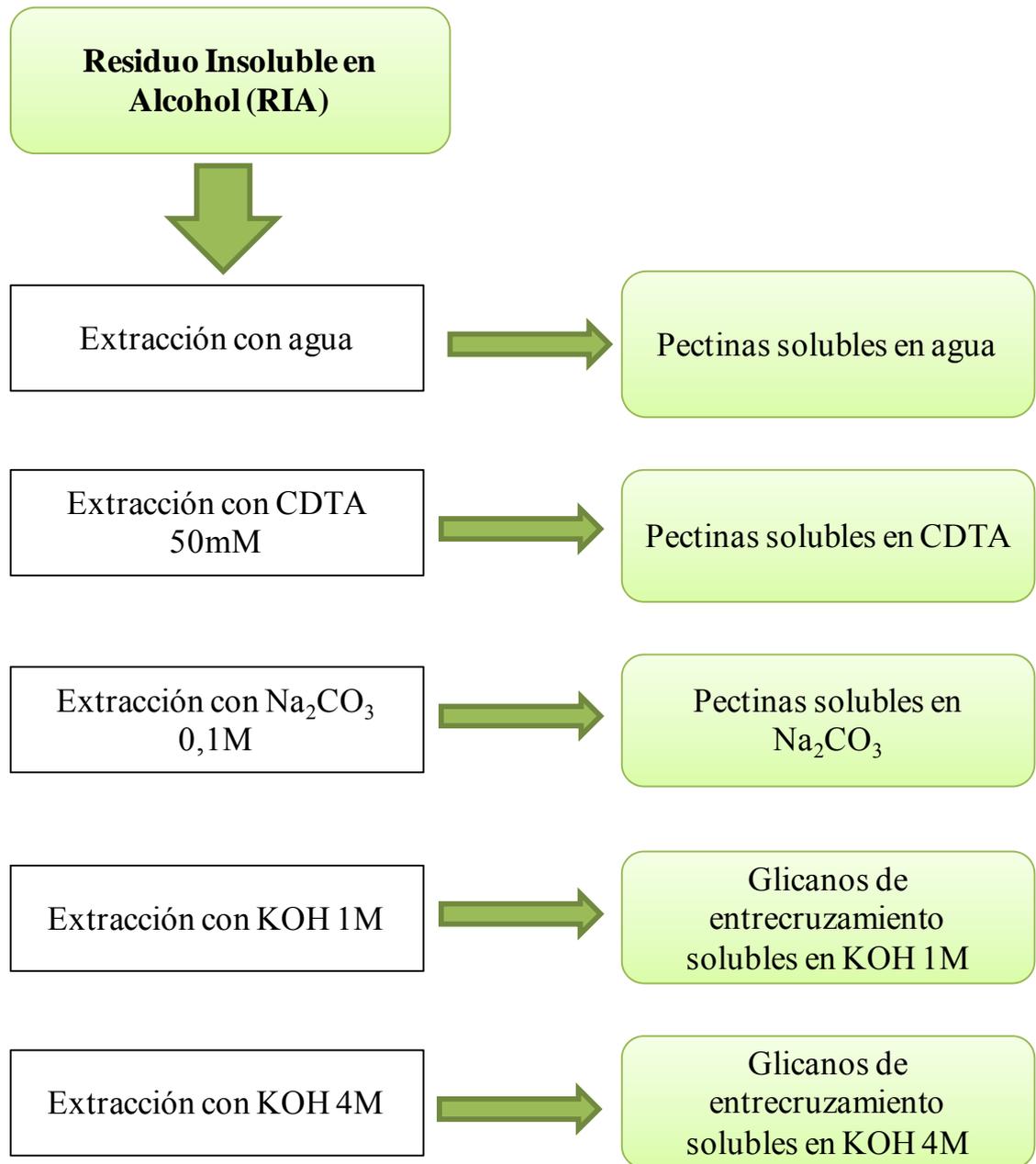


Figura 2.3. Protocolo utilizado en el fraccionamiento de pared celular de peras Bartlett.

2.4.4. Acondicionamiento de muestras

Una vez obtenidas las diferentes fracciones de cada muestra, estas se dializaron con membranas de corte de M_w 6000-8000 durante 3 días contra agua corriente y dos

días contra agua destilada a 4 °C. Las soluciones alcalinas (KOH 1M y 4M) fueron llevadas a pH neutro mediante adición de ácido acético diluido. Luego fueron liofilizadas empleando un liofilizador VirTis, modelo Freezemobile 3 (SpScientific, USA).

2.4.5. Cuantificación de azúcares totales

Se empleó el método colorimétrico del fenol-ácido sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956). A 0,5 mL de solución conteniendo hasta 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de hidratos de carbono se le adicionaron 0,5 mL de fenol al 5 % y se mezclaron. Luego se agregaron 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado directamente sobre la superficie de la solución a fin de asegurar un calentamiento máximo y se dejaron reposar 10 min. Transcurrido este tiempo, los tubos se agitaron en un vortex y se mantuvieron 20 min a temperatura ambiente. En forma paralela se preparó un blanco con agua destilada. Finalmente se hizo la lectura de la absorbancia del color desarrollado a 490 nm (máximo de absorción para hexosas), y el contenido de hidratos de carbono totales se cuantificó por referencia a curvas patrón de glucosa. El resultado se expresó como porcentaje de azúcar anhidro (x 162/180).

2.4.6. Cuantificación de ácidos urónicos

Se realizó siguiendo la modificación de Filisetti-Cozzi y Carpita (1991) del método de Blumenkrantz y Asboe-Hansen (1976). Se tomaron alícuotas de soluciones de la muestra de polisacárido conteniendo hasta 200 nmol de ácido hexurónico y se diluyeron con agua hasta 0,5 mL. Posteriormente se agregaron 40 μL de la Solución A

(ácido sulfámico/ sulfamato de potasio 4 M, pH 1,6) a cada tubo y se agitaron en vórtex. Sobre los tubos colocados en baño de hielo se adicionaron 2,5 mL de la Solución B (tetraborato de sodio 0,0125 M en ácido sulfúrico concentrado, grado analítico). Nuevamente se agitaron los tubos, y se llevaron a un baño de agua a 100 °C durante 30 min, luego se colocaron en un baño de hielo para alcanzar la temperatura ambiente rápidamente y se les agregó 80 µL de la Solución C (*m*-hidroxidifenilo 0,15 % en hidróxido de sodio acuoso al 0,5 %). Finalmente se agitaron y se dejaron reposar 5 a 10 min y se leyó la absorbancia a 525 nm.

Se preparó un blanco con agua destilada y se utilizó ácido galacturónico de concentración 100 µg mL⁻¹ como patrón.

2.4.7. Determinación de azúcares neutros por cromatografía gaseosa

La determinación de azúcares neutros componentes se realizó por conversión a acetatos de alditol (Blakeney *et al.*, 1983) tras hidrólisis de 3 mg de muestra con ácido trifluoroacético (TFA) 2 M a 120 °C por 90 min, luego los hidrolizados fueron disueltos en agua y nuevamente evaporados; este tratamiento se realizó las veces necesarias hasta eliminar totalmente el ácido. Las muestras se colocaron en un desecador al vacío durante una noche. A las muestras secas (provenientes de las hidrólisis) contenidas en los viales, se les agregaron 0,5 mL de hidróxido de amonio 1 M y se redujeron con NaBH₄ (5 mg) durante al menos 2 h a temperatura ambiente. Posteriormente se adicionaron gotas de ácido acético diluido para destruir el exceso de agente reductor, hasta cesar la efervescencia, y se eliminaron los cationes por agregado de resina Amberlite IR-120 (H⁺). Las muestras se filtraron y evaporaron a sequedad. El ácido bórico generado se eliminó como borato de metilo, mediante 5 agregados de 0,5 ml de

metanol y evaporación a sequedad en cada oportunidad, las muestras se mantuvieron en desecador al vacío durante una noche y la mezcla de alditos obtenida se acetiló con 1 mL de anhídrido acético-piridina (1:1), calentando durante 45 min a 100 °C. La solución resultante se enfrió y se extrajo con 1,5 mL de cloroformo-agua (1:1). La fase acuosa se recuperó y se extrajo nuevamente con 1 mL de cloroformo.

Los extractos clorofórmicos se lavaron tres veces con 1 mL de solución saturada de bicarbonato de sodio y dos veces con 1 mL de agua destilada. Finalmente los extractos se secaron con sulfato de sodio anhidro y se evaporaron a sequedad. El residuo obtenido se disolvió con 20 µL de cloroformo inmediatamente antes de ser inyectado en el cromatógrafo.

Las cromatografías gas-líquido se realizaron en un cromatógrafo Hewlett Packard 5890 A equipado con un detector de ionización de llama (FID) y un integrador HP3395. Se utilizó nitrógeno como gas portador y las corridas se efectuaron con una relación de split 80:1. Se utilizó una columna capilar SP-2330 (Supelco), de 30 m de largo, 0,25 mm de diámetro interno y 0,20 µm de espesor de la fase líquida. El flujo del gas portador fue de 1 mL/min y la presión en cabeza de columna fue de 15 Psi (= 1,02 atm). Se realizó una corrida isotérmica a 220 °C y las temperaturas del inyector y detector fueron de 240 °C. Los resultados se expresaron como moles de los respectivos azúcares por cada 100 moles de azúcares totales.

2.4.8. Determinación de despolimerización de pectinas y de glicanos entrelazantes por cromatografía de exclusión molecular (SEC)

Se pesaron 3 mg de las muestras de CDTA y Na₂CO₃ y fueron disueltas en 0,8 mL de imidazol (0,4 mg mL⁻¹). Tras agitar toda la noche, se le adicionaron 0.2 mL de

NH₄AcO 1 M (pH 5). Las soluciones fueron centrifugadas y el sobrenadante se sembró en una columna de Sepharose CL-2B de 300mm × 9mm d.i. (Sigma Chemical Co., MI, USA) eluyendo a temperatura ambiente con NH₄AcO 0,2 M, pH 5 (Brummell *et al.*, 2004).

Se pesaron 3 mg de cada muestras de la fracciones acuosa, KOH 1M y KOH 4 M y fueron disueltas en 1 mL de NaOH 0,1M y tras centrifugación fueron cromatografiadas por SEC de baja presión por medio de una columna de Sepharose CL-6B de 300mm x 9 mm d.i. (Sigma Chemical Co., Saint Louis, Missouri) eluyendo a temperatura ambiente con NaOH 0,1 M. Las fracciones fueron colectadas y las alícuotas fueron analizadas para carbohidratos totales debido a que en estudios previos (Ponce *et al.*, 2010), los perfiles de ácidos urónicos y carbohidratos totales fueron similares.

2.5. Análisis estadístico

Se trabajó con un diseño experimental totalmente aleatorizado, siendo la unidad de observación el conjunto de frutos, y la unidad experimental los árboles que recibieron los diferentes tratamientos en el campo. De acuerdo al objetivo general del presente trabajo se consideraron para el ensayo 2, dos tratamientos principales: (1) exposición a la luz solar, (2) sombreado y luego dos tratamientos para el ensayo 3, (1) cobertura de frutos expuestos a la luz solar con una película que impide el paso de la radiación UVB (Mylar-D), (2) cobertura de frutos expuestos a la luz solar con una película con transmitancia elevada a la luz UVB (Stretch). En ambos ensayos, los tratamientos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) con dos factores: los tratamientos y las dos secciones del fruto, para analizar los efectos principales. Por otro lado, bajo el mismo tipo de diseño se analizó el efecto de los tratamientos con y sin 1-

MCP contemplando el anidamiento dentro de los cuatro tratamientos principales, utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico InfoStat (InfoStat, 2007), con niveles de significación de 0,05%. Los supuestos de homogeneidad de varianza y normalidad fueron verificados por las pruebas de Levene y Shapiro-Wilk, respectivamente. Cuando estos supuestos no fueron satisfechos, los datos se transformaron según la función matemática más adecuada. Cuando un valor de F resultó significativo, las medias de los tratamientos se compararon por medio de la prueba de Tukey. Los resultados del estudio de ontogenia se trabajaron bajo el mismo diseño experimental y se analizaron con un ANOVA de medidas repetidas en el tiempo. Con los datos de radiación se efectuaron análisis descriptivos. Para cuantificar la radiación UVB que interceptan las dos películas se realizó un ANOVA con un nivel de significación de 0,05%.

Capítulo 3. RESULTADOS

3.1. Ensayo 1. Efecto de la maduración de peras Bartlett en el árbol sobre la calidad y degradación de pared celular de la pulpa y piel de los frutos

3.1.1. Cambios en los índices de madurez, en la textura y en la composición de la pared celular de la pulpa de peras Bartlett madurando en el árbol

3.1.1.1. Producción de etileno, color, firmeza y jugosidad

La producción de etileno a los 95 días post antesis (DPA) fue cercana a $40 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y aumentó en forma rápida a medida que los frutos se aproximaron a la fecha de inicio de cosecha, observándose un salto importante entre los 99 y 109 DPA, período en el que se duplicó, luego se mantuvo sin mayores variaciones hasta el día 116. A los 119 DPA fue de alrededor de $100 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y no se incrementó significativamente con posterioridad (Figura 3.1).

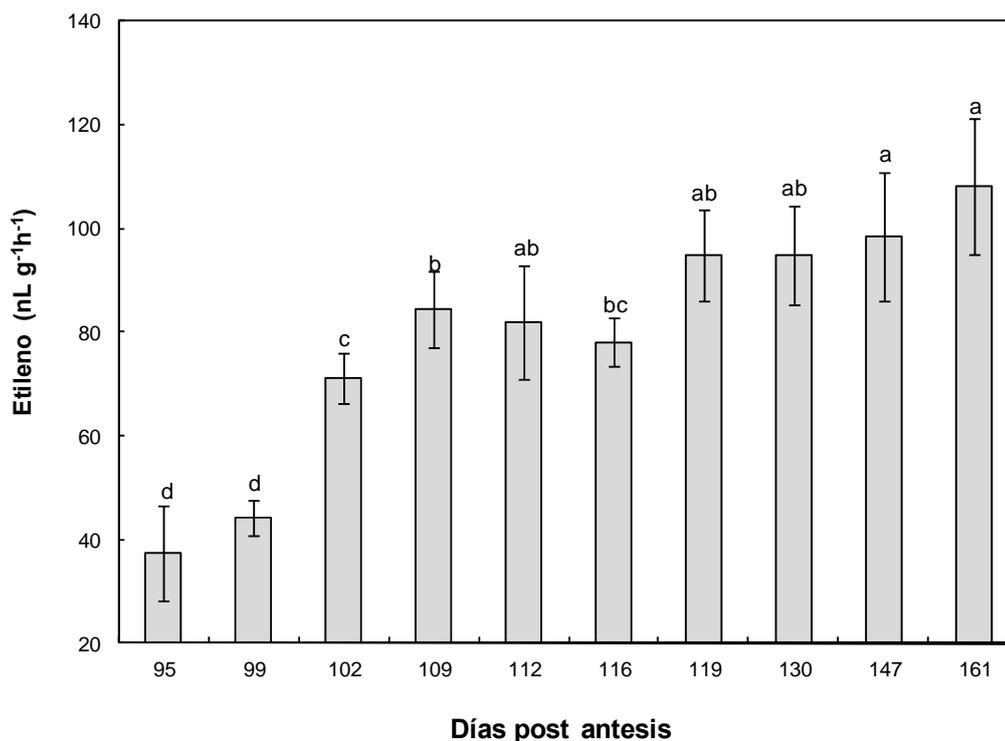


Figura 3.1. Producción de etileno de peras Bartlett durante el desarrollo de los frutos en planta. Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 3$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

La luminosidad aumentó de 52 a 56 unidades en el período 95-119 DPA y luego alcanzó un valor de 58 en los dos últimos estadios de madurez (147 y 161 DPA) (Figura 3.2). En las últimas fechas de evaluación, no se detectaron cambios significativos en el valor de L^* . Por su parte, el tono de color disminuyó de manera gradual durante la maduración de las peras en planta, mostrando un cambio en la coloración de la piel que viró desde tonalidades verdes (122) a los 95 DPA hasta verde amarillento (116) en el estadio de sobre madurez (SM, 161 DPA) (Figura 3.3).

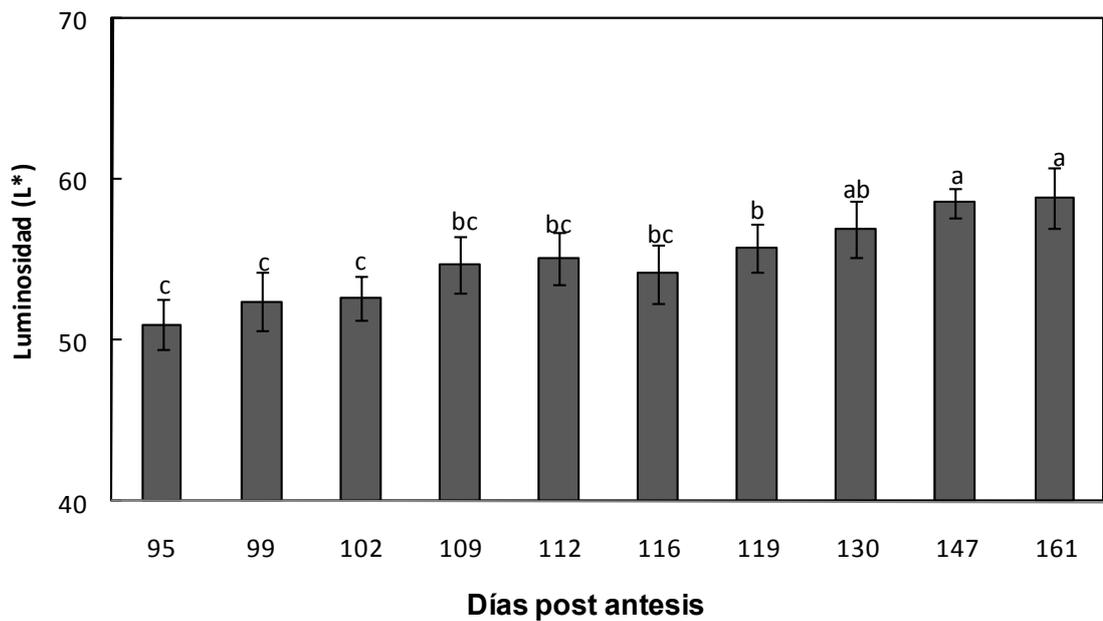


Figura 3.2. Luminosidad (L^*) de peras Bartlett madurando en planta, desde los 95 a los 161 días post anthesis (DPA). Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 20$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

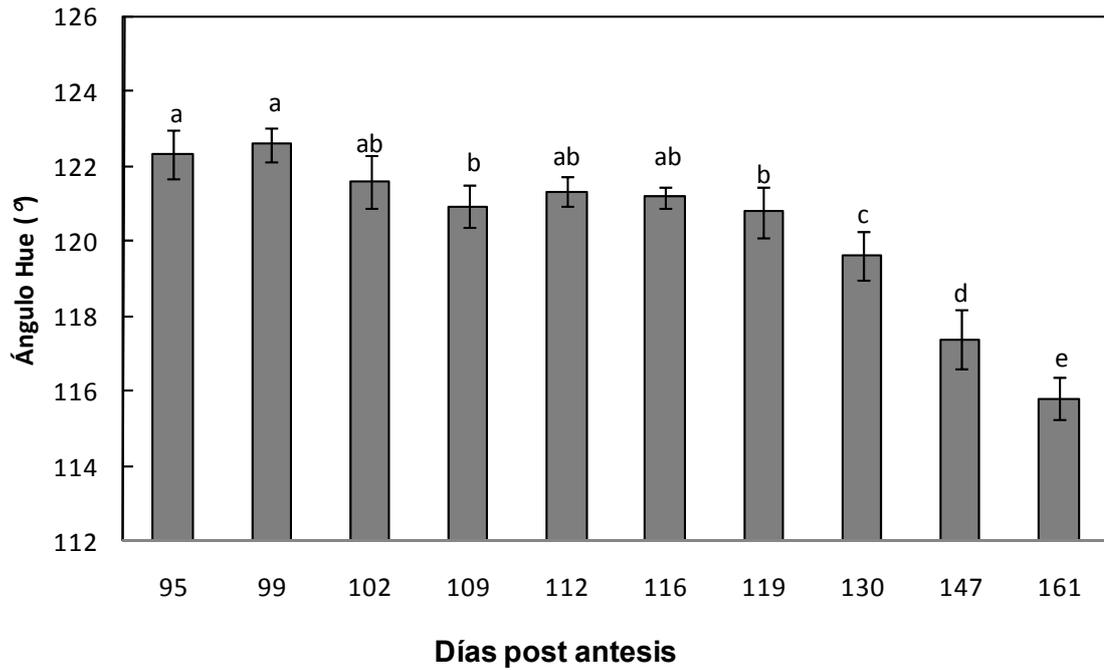


Figura 3.3. *Ángulo hue (°) de peras Bartlett madurando en planta, desde los 95 a los 161 días post antesis (DPA). Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 20$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.*

La firmeza de las peras que maduraron en planta, presentó entre los 95 y 102 DPA una disminución rápida con una pérdida de 16,2 N (Figura 3.4). Un descenso en los valores de firmeza de similar magnitud ocurrió en las dos semanas siguientes; luego se mantuvo sin variaciones significativas hasta los 130 DPA para presentar posteriormente una fuerte disminución de 30 N en el estadio de sobre madurez (161 DPA) (Figura 3.4).

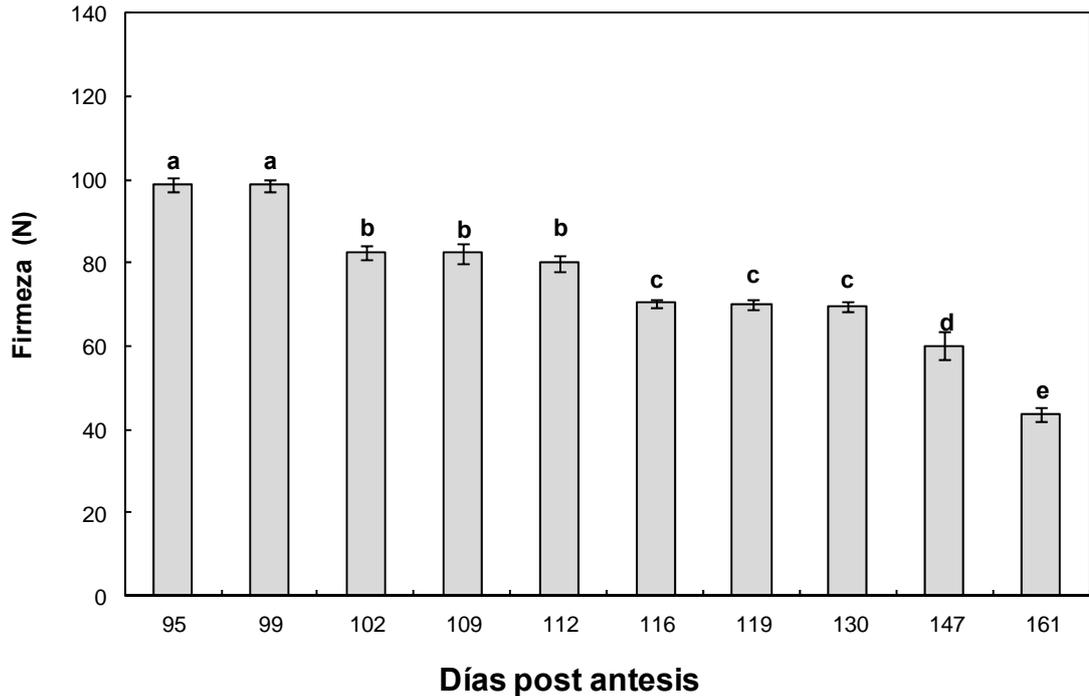


Figura 3.4. Firmeza (N) de peras Bartlett madurando en planta, desde los 95 a los 161 días post anthesis (DPA). Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 20$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

Con el objetivo de determinar la aptitud para el consumo de las peras que maduraron en planta, se determinó el jugo libre en los tres últimos estadios (119, 147 y 161 DPA) luego de dejar madurar a los frutos a 20 °C. A estos estadios se los llamo: madurez temprana (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez (SM, 161 DPA).

No se encontraron diferencias en el porcentaje de jugo libre en los frutos de los estadios de MT y MM, mientras que en los frutos SM, se obtuvo menos jugo libre que los dos estadios anteriores (Figura 3.5).

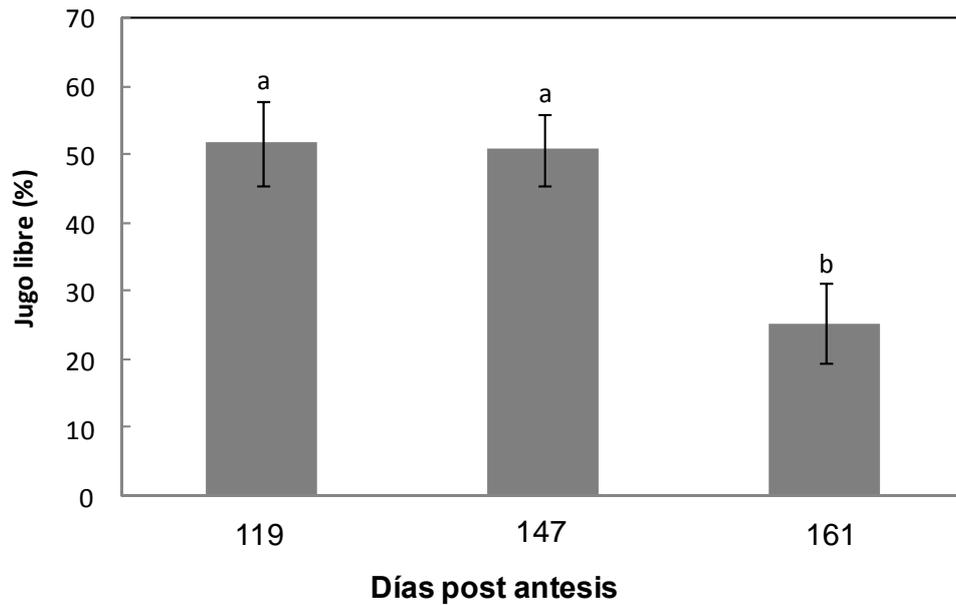


Figura 3.5. Jugo libre (%) en la pulpa de peras Bartlett cosechadas en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA). Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 8$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

3.1.1.2. Análisis sensorial

Del análisis de los diferentes atributos evaluados por el panel sensorial, se observó que los frutos cosechados más temprano (MT) presentaron un menor dulzor e impacto de sabor que las peras cosechadas en las dos fechas posteriores.

Por otra parte la jugosidad y la acidez de los frutos fueron los atributos en donde se detectaron las mayores diferencias entre las tres fechas de cosecha, percibiéndose en el estadio de SM una menor jugosidad y acidez (Figura 3.6).

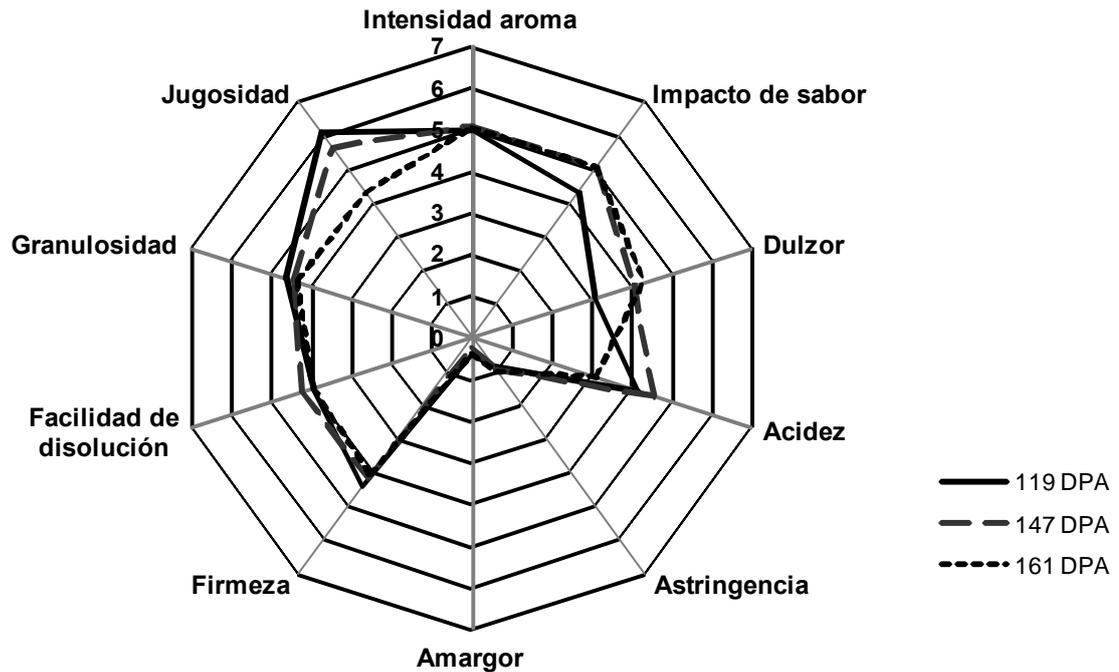


Figura 3.6. Perfil de textura, aroma y sabor de peras Bartlett madurando en planta y cosechadas en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA). Los valores fueron determinados con escala lineal de 0 a 10 en donde 0 = nada, 10 = extrema.

Del análisis de los índices determinados, se puede concluir que las peras continuaron madurando en la planta, pero a pesar de ello, resulta importante destacar que las peras del estadio SM no alcanzaron las características organolépticas de jugosidad y textura adecuadas para la variedad.

3.1.1.3. Rendimiento de pared celular

Se evaluaron los cambios en la composición de la pared celular de la pulpa de las peras a fin de determinar algunos procesos anormales que pudieran asociarse con la dificultad que presentaron las peras en desarrollar una textura óptima al madurar en el árbol. En las primeras fases de crecimiento de los frutos (41 y 61 DPA) el rendimiento del residuo insoluble en alcohol (AIR) fue el doble del observado en los estadios de madurez temprana. Posteriormente el rendimiento de AIR disminuyó un 50% entre los 61 y 109 DPA y luego se observó una reducción de un 33% entre los estadios MT (119

DPA) y MM (147 DPA). A partir de ese momento, no se encontraron cambios en el contenido de AIR a pesar de la marcada reducción de firmeza de los frutos (Figura 3.7).

En los dos estadios previos a la madurez (41 y 61 DPA) se determinó un contenido de almidón que llegó a representar el 0,3% y 4,4% del AIR, luego el contenido de almidón representó el 15% del AIR y no presentó cambios entre los estadios MT y MM. Finalmente, se observó una disminución del almidón que representó el 5% del AIR a los 161 DPA.

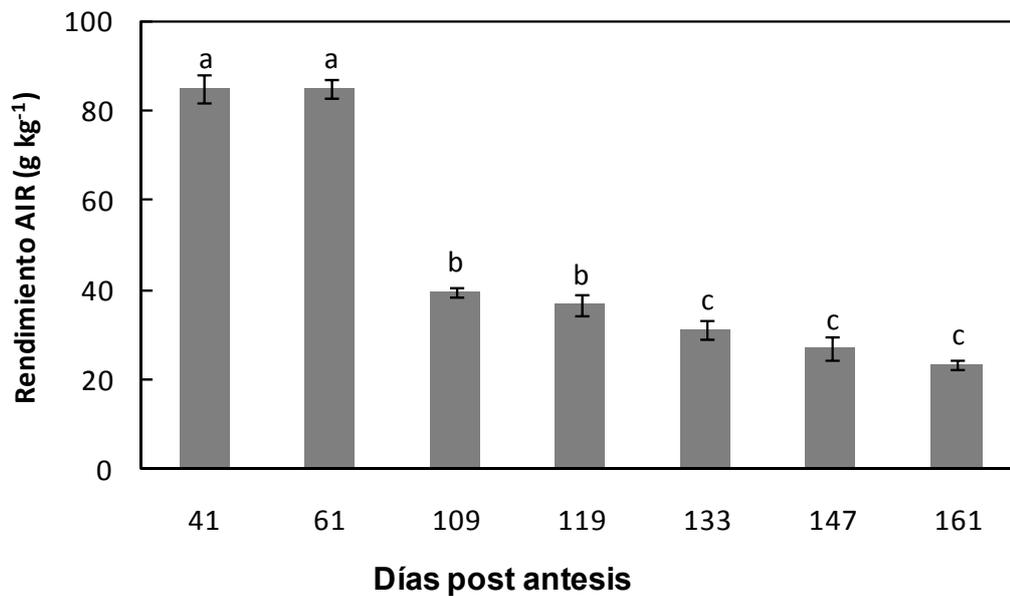


Figura 3.7. Rendimiento de AIR de pulpa de peras Bartlett madurando en planta, desde los 41 a los 161 días post anthesis (DPA). Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 3$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

3.1.1.4. Solubilización de pectinas y glicanos de entrecruzamiento

El contenido de ácidos urónicos (AU) solubles en agua aumentó entre los 119 y 147 DPA (Figura 3.8). Las peras que maduraron en el árbol a los 161 DPA y que no desarrollaron la textura adecuada, presentaron un menor contenido de urónicos solubles en agua que los dos estadios de madurez previos. Este hecho es inesperado, ya que una característica común que acompaña a la pérdida de firmeza de muchos frutos es un aumento de la pectina soluble en agua. El contenido de AU en las F-Na₂CO₃ y F-KOH

1M, también aumento hasta los 146 DPA, pero no se observaron cambios posteriores (Figura 3.8). Como se esperaba, los AU de la F-KOH 4M representaron menos del 2% del total, y no se observaron cambios entre los diferentes estadios de madurez estudiados. La solubilización de las pectinas entre los estadios MT y SM, no fue completamente detenida, de hecho se observó un aumento marcado en la F-CDTA, que representó el 40% del total de los AU de las peras del último estadio (161 DPA). Este aumento de pectinas solubles en CDTA probablemente se produjo en parte a partir de la insolubilización de poliuronidos solubles en agua.

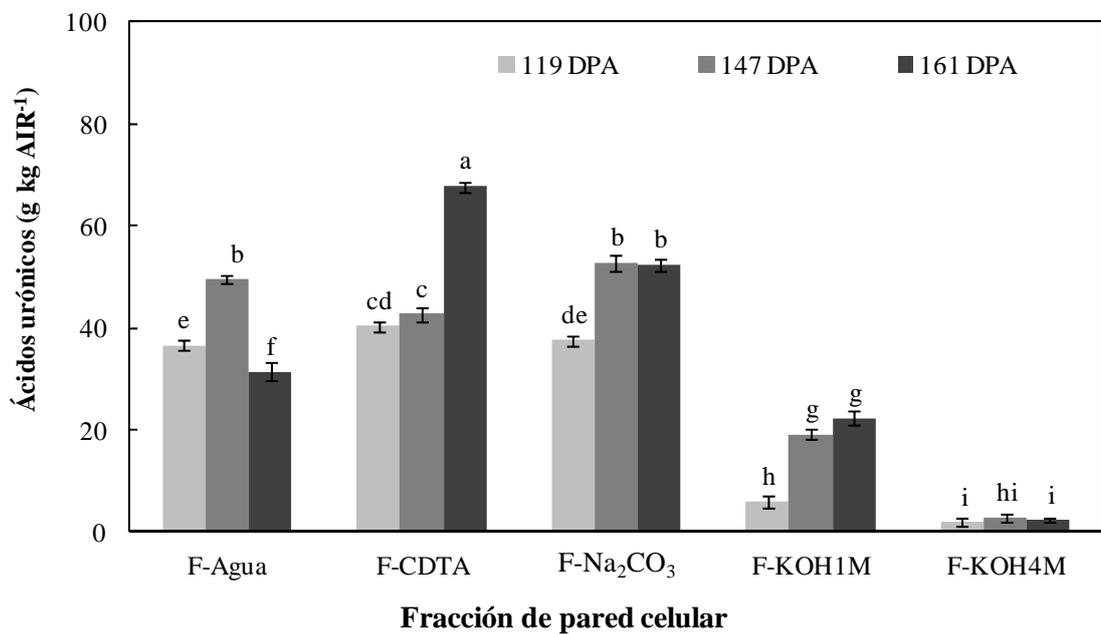


Figura 3.8. Extractabilidad de ácidos urónicos en las diferentes fracciones de la pared celular de pulpa de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA). Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 3$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

En el estadio de MT el contenido de azúcares neutros (AN) fue más abundante en la F-KOH 4M (37%), seguido por la F-KOH 1M, F-Na₂CO₃ y F-CDTA con 24, 20 y 13% respectivamente (Figura 3.9). El contenido de AN solubles en agua en este estadio fue muy bajo.

Entre los estadios de MT y MM se observó una importante reducción de los AN en la F-KOH 4M de manera conjunta con una acumulación en la F-Agua. En el estadio MM los AN estuvieron bastante uniformemente distribuidos en todas las fracciones de la pared (Figura 3.9). Los AN solubles en F-Agua aumentaron durante el progreso de la maduración. En los frutos SM la F-Agua fue la que presentó el mayor contenido de AN seguida por la F-CDTA. El aumento de los AN en esta etapa, parecería resultar de material insoluble asociado con celulosa.

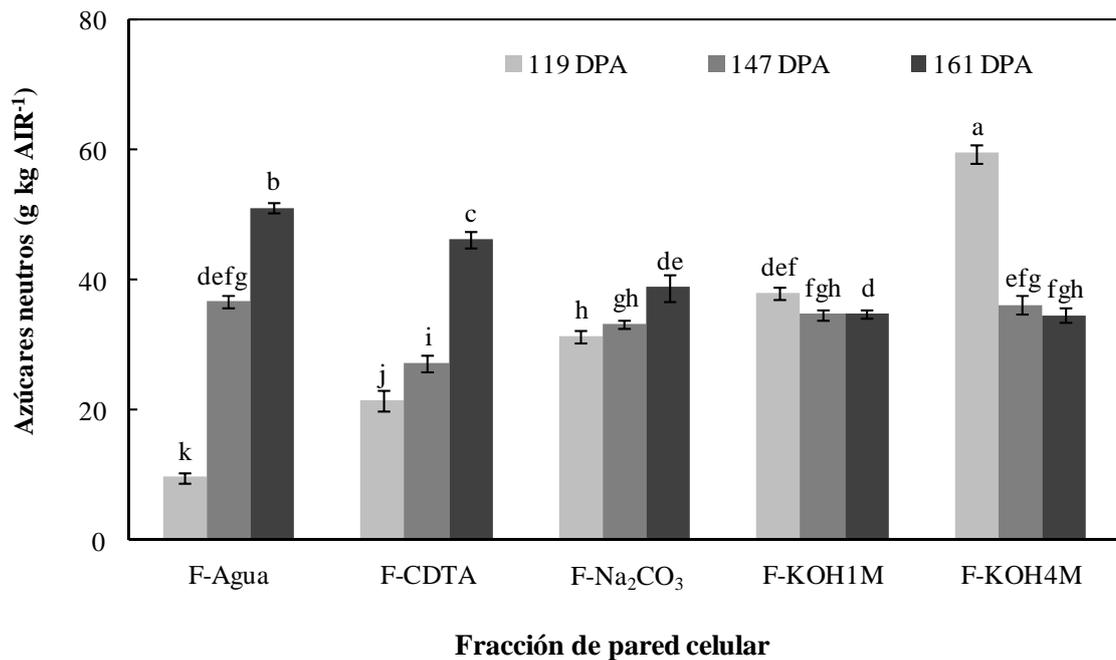


Figura 3.9. Extractabilidad de azúcares neutros en las diferentes fracciones de la pared celular de pulpa de peras Bartlett en (ER, 119 DPA), un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA). Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 3$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

3.1.1.5. Composición de polisacáridos de las pectinas y glicanos de entrecruzamiento

La Ara, seguida por la Gal y la Glc, fueron los azúcares neutros más abundantes tras hidrólisis de la F-Agua en todos los estadios de madurez evaluados (Cuadro 3.1). El contenido de azúcares se incrementó de manera muy marcada entre el estadio de MT (119 DPA) y SM (161 DPA). La acumulación de Ara aumentó 8 veces seguida por la de

Gal, que aumentó cinco veces entre el estadio inicial (119 DPA) y el final (161 DPA). La acumulación de Ara en la F-Agua ocurrió principalmente entre los dos estadios iniciales (MT y MM). En ese aspecto, se diferencia de lo observado en la Gal, que aumentó a un mismo ritmo durante el proceso de maduración de las peras en el árbol (Cuadro 3.1).

En la F-CDTA se observó el mismo patrón que el descrito para la F-Agua con la Ara y Gal como principales azúcares presentes. En la F- Na₂CO₃ se observó el mayor contenido de Ara. En el estadio de madurez temprana la Ara representó en la fracción de carbonato más del 50% del total de AN, curiosamente (como lo observado en las F-Agua y CDTA) su concentración aumentó a medida que avanzó la madurez de los frutos, hecho que sugiere que algunos polisacáridos ricos en Ara estarían fuertemente asociados a los glicanos de entrecruzamiento o celulosa en el estadio de MT (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1. Composición de azúcares neutros (g kg AIR⁻¹) de las fracciones pécticas de pulpa de peras 'Bartlett' en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA).

Fracción	Estadio	Monosacáridos						
		Ram	Fuc	Ara	Xil	Man	Gal	Glc
F-Agua	119 DPA	0,4	0,1	3,4	0,8	0,7	3,0	1,3
	147 DPA	1,8	0,5	19,9	2,5	1,1	7,9	2,9
	161 DPA	1,9	0,5	23,7	4,5	1,4	13,4	5,9
F-CDTA	119 DPA	1,0	0,3	8,3	1,5	0,8	4,1	5,5
	147 DPA	1,1	0,3	17,4	2,3	0,5	3,4	2,3
	161 DPA	2,6	0,7	18,9	3,6	1,3	13,9	5,3
F-Na ₂ CO ₃	119 DPA	1,7	0,2	22,6	0,7	0,0	5,7	0,6
	147 DPA	0,8	0,0	30,9	0,5	0,0	1,0	0,0
	161 DPA	1,3	0,0	33,3	0,8	0,0	3,3	0,0

En la F-KOH 1M hubo un predominio de otros azúcares además de la Ara, como la Glc, Gal, Xil y Man (Cuadro 3.2). En este caso, el contenido de Ara aumentó entre el

estadio MT y MM, de manera conjunta con una rápida pérdida de Glc entre los mismos estadios de madurez mencionados anteriormente. En la F-KOH 4M también se detectaron grandes pérdidas de Glc entre los primeros estadios (119 y 147 DPA), pero posteriormente el contenido de Glc aumentó en las dos fracciones ricas en glicanos (Cuadro 3.2).

De un análisis más detallado de todas las fracciones, se observó que la solubilización de la Ara se produce marcadamente entre los estadios MT y MM, y que estaría relacionada, al menos en parte del material insoluble de las fracciones alcalinas. La reducción de Glc en las fracciones alcalinas, que se observó entre los estadios MT y MM podría estar relacionada con la degradación de almidón remanente, mientras que la acumulación observada entre el estadio de madurez media (MM) y sobre madurez o madurez tardía (SM) a una hidrólisis parcial de la celulosa.

Cuadro 3.2. *Composición de azúcares neutros (g kg AIR⁻¹) de las fracciones de glicanos de entrecruzamiento de pulpa de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA).*

Fracción	Estadio	Monosacáridos						
		Ram	Fuc	Ara	Xil	Man	Gal	Glc
F-KOH 1M	119 DPA	0,5	1,0	7,3	8,4	1,3	4,8	14,8
	147 DPA	1,6	0,5	17,7	7,1	1,2	2,8	4,1
	161 DPA	1,1	0,4	12,2	5,6	0,0	3,5	12,1
F-KOH 4M	119 DPA	0,4	2,7	2,9	16,8	5,6	7,4	23,9
	147 DPA	0,3	1,3	3,2	14,1	3,9	3,7	9,7
	161 DPA	0,2	1,7	2,0	9,6	2,5	4,3	14,3

3.1.1.6. Despolimerización de pectinas y glicanos de entrecruzamiento

No se observó despolimerización de las pectinas solubles en F-Agua y F-Na₂CO₃, durante el proceso de maduración en planta. En la F-CDTA se identificó cierta reducción en el tamaño molecular de las pectinas entre los 119 DPA y los 147 DPA, pero posteriormente no se detectaron cambios (Figura 3.10). También se observó un

desplazamiento hacia un menor peso molecular en la F-KOH 4M entre los dos primeros estadios (119 y 147 DPA), pero no se observaron cambios posteriores (Figura 3.11).

Estos resultados muestran que la despolimerización en peras Bartlett que maduran en la planta, ocurre en los primeros estadios y principalmente en las pectinas iónicamente unidas y en el xiloglucano.

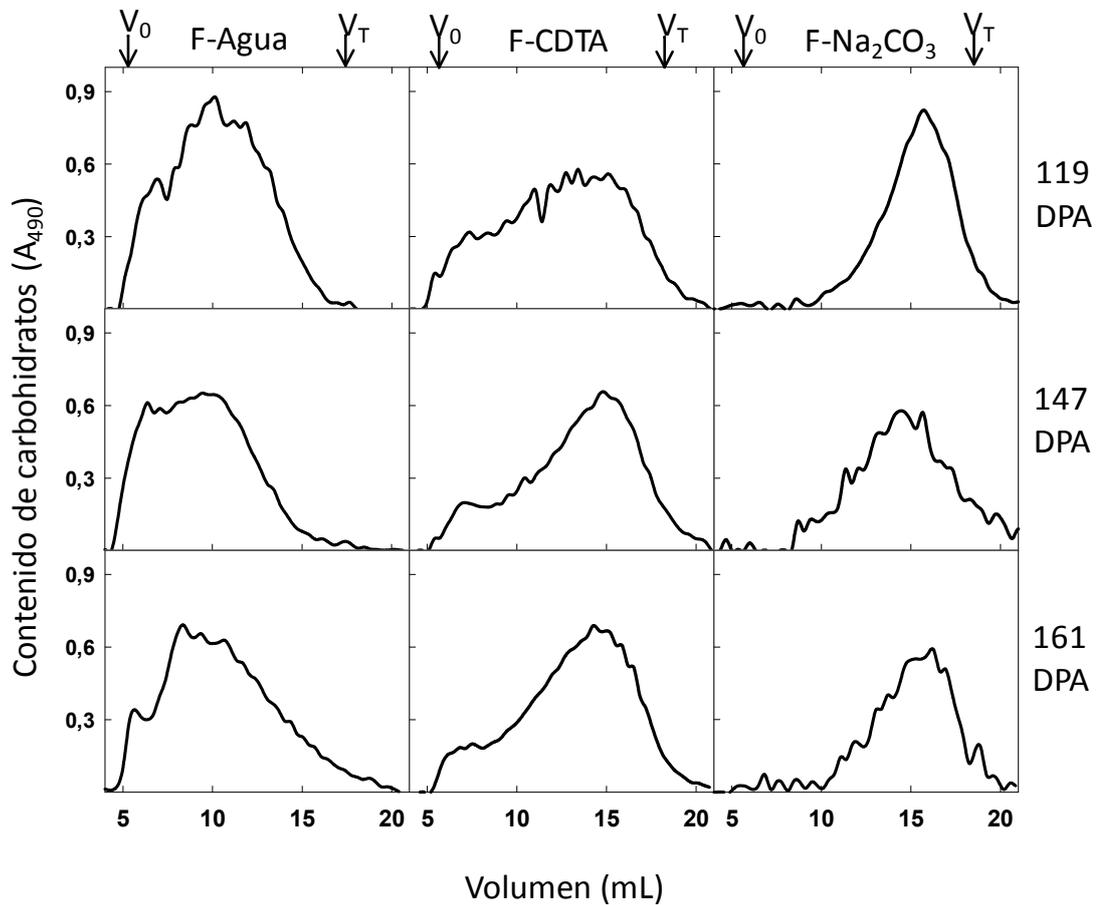


Figura 3.10. Cromatografía de exclusión molecular (SEC) de las fracciones Agua, CDTA y Na_2CO_3 (F-Agua, F- CDTA, F- Na_2CO_3 respectivamente) de pulpa de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA), y tardía o sobre madurez (SM, 161 DPA), en columna de Sepharose CL-6B (F-Agua) y CL-2B (F-CDTA y F- Na_2CO_3). V_0 , volumen muerto; V_b , volumen total.

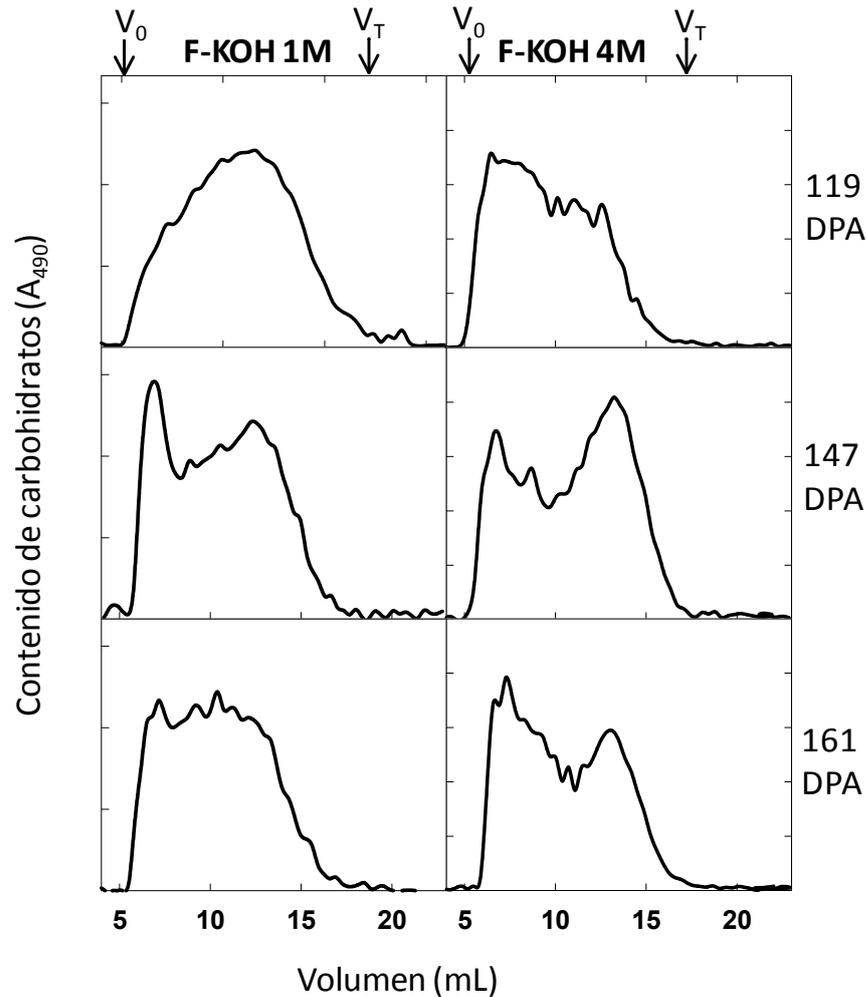


Figura 3.11. Cromatografía de exclusión molecular (SEC) de las fracciones KOH 1M y KOH 4M (F-KOH 1M y F-KOH 4M, respectivamente) de pulpa de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA), y tardía o sobre madurez (SM, 161 DPA), en columna de Sepharose CL-6B. V_0 , volumen muerto; V_t , volumen total.

A partir de los resultados del presente trabajo se pudo determinar que la incapacidad que presentaron las peras Bartlett que maduran en planta para desarrollar una textura jugosa y mantecosa, se asocia con algunos cambios atípicos en el desensamblaje de pared celular. La solubilización de Ara se determinó como una de los procesos clave, que se produjo a una mayor velocidad entre los estadios de MT a MM,

pero posteriormente procede durante la maduración en árbol. Las pectinas solubles en agua aumentan entre los dos primeros estadios, para luego de 161 DPA decrecer drásticamente, observándose un aumento de poliuronidos solubles en la F-CDTA. Tanto la solubilización como la despolimerización de los glicanos de entrecruzamiento, ocurrieron principalmente entre los estadios intermedios, y algún glucano derivado de la celulosa parece solubilizarse en el último estadio. De manera contraria, la despolimerización de pectinas, que es normalmente un evento tardío en el proceso de maduración, no se observó en ninguna fracción luego del estadio de madurez media (MM, 147 DPA) (Figura 3.12).

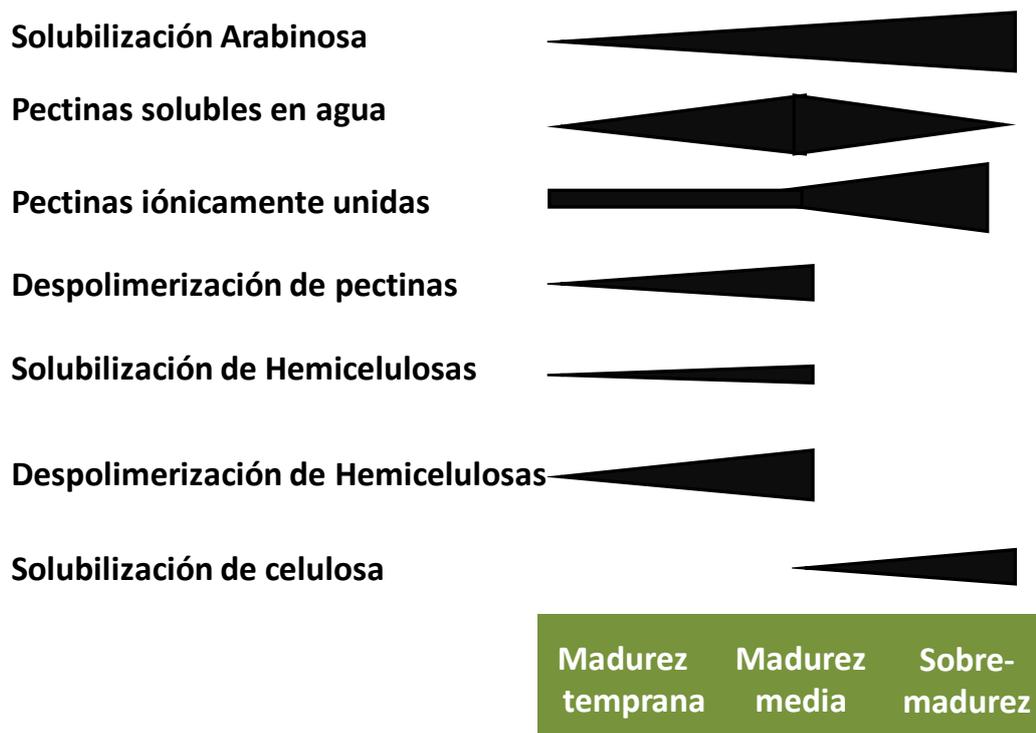


Figura 3.12. *Secuencia de los cambios de la pared celular en peras Bartlett madurando en planta en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA) y madurez medio (MM, 147 DPA) que desarrollan una textura normal y característica de la variedad, y un estadio de sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA) que no logró la textura jugosa y mantecosa deseada.*

3.1.2. Cambios en la pared celular de la piel de peras Bartlett madurando en planta

En la sección anterior pudimos identificar algunos cambios asociados con el desarrollo de textura anormal en la pulpa de peras Bartlett madurada en el árbol. A fin de determinar si esta insolubilización de pectinas tenía lugar también en otros tejidos se analizaron los cambios en los polisacáridos de pared de la piel de los frutos. El estudio de la pared celular de la piel de los frutos posee asimismo una gran importancia porque constituye la primera barrera física de protección frente a la acción de agentes patógenos que afectan su conservación.

3.1.2.1. Rendimiento de pared celular

Los valores de AIR obtenidos de la piel de los frutos prácticamente triplicaron a los valores registrados en la pulpa (Figura 3.7 y 3.13). El rendimiento de los residuos insolubles en alcohol (AIR) de la piel de las peras, disminuyó un 15% entre los estadios MT (119 DPA) y MM (147 DPA). Al igual que lo observado en la pulpa no se encontraron cambios en el contenido de AIR en la piel cuando las peras permanecieron en el árbol luego de los 146 DPA (Figura 3.13).

El contenido de almidón del AIR de la piel de los frutos fue menor al observado en la pulpa, y no presentó cambios importantes entre los estadios de madurez estudiados. El almidón representó el 5% del AIR de la piel en el estadio de MT, el 2% en el de MM y 1% en SM.

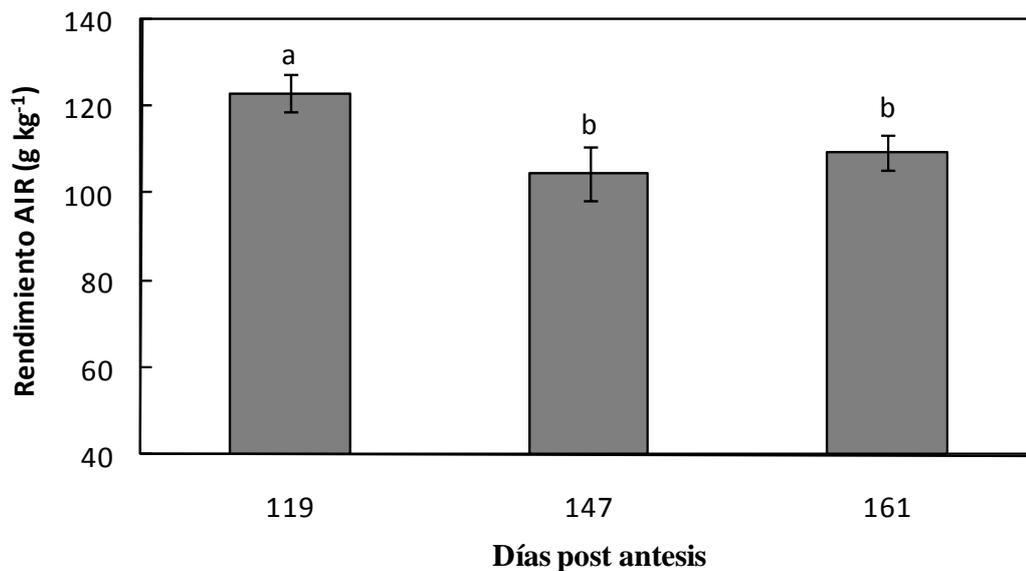


Figura 3.13. Rendimiento de AIR de la piel de peras Bartlett madurando en el árbol en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA). Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 3$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

3.1.2.2. Solubilización de pectinas y glicanos de entrecruzamiento

Una diferencia inicial entre las pectinas de la pulpa y piel de las peras fue que en el caso de la piel, mostraron una menor solubilidad (mayor proporción relativa de F- Na_2CO_3 respecto a F-Agua) (Figura 3.14), que podría deberse a un mayor grado de entrecruzamiento de los diferentes componentes de la pared.

Las pectinas en la F-CDTA aumentaron su contenido durante la maduración al igual que en la pulpa pero a diferencia de lo observado en esa zona, en la piel también se detectó un incremento de AU solubles en agua. Esto ocurrió en forma concomitante con una disminución de poliuronidos solubles en Na_2CO_3 y muestra un proceso de degradación de pared normal, similar al observado en muchos frutos durante el proceso de maduración (Figura 3.14).

Al igual que en la pulpa de los frutos los AU solubles en la F-KOH 1 y 4 M representaron una proporción muy baja del total (Figura 3.14).

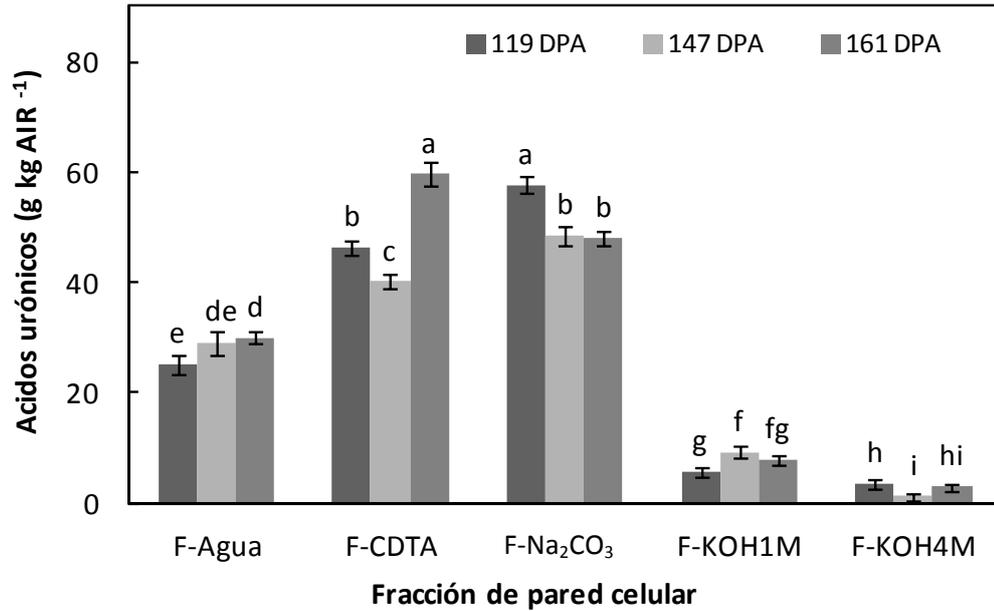


Figura 3.14. Extractabilidad de ácidos urónicos en las diferentes fracciones de la pared celular de la piel de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA). Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 3$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

Otro aspecto llamativo resultó el bajo contenido de azúcares neutros asociados con las fracciones pécticas, en especial con las asociadas iónica y covalentemente en la piel de los frutos (Figura 3.15).

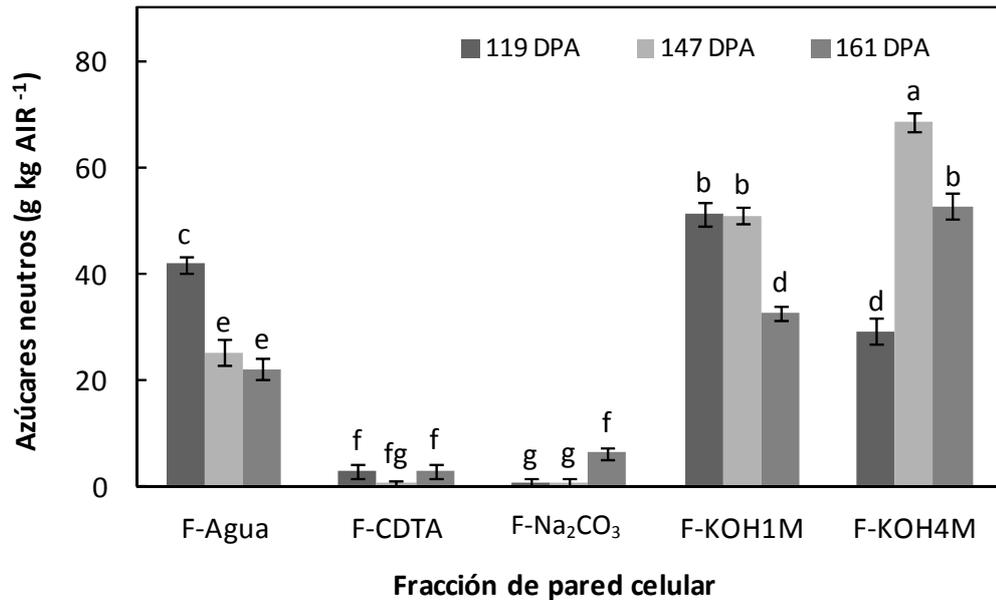


Figura 3.15. Extractabilidad de azúcares neutros en las diferentes fracciones de la pared celular de la piel de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA). Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 3$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

La mayor relación entre azúcares neutros y ácidos urónicos en las fracciones CDTA y Na₂CO₃, indica que las pectinas de la pulpa de los frutos poseen un grado mayor de ramificación que las de la piel o bien que existe una mayor predominancia de pectinas lineales como el homogalacturonano (HG) respecto al RG-I en la piel (Figura 3.16). Otro aspecto contrastante entre las dos zonas del fruto estudiada, fue que mientras en la pulpa se observó un enriquecimiento marcado en pectinas ramificadas conforme progresa la maduración en la fracción soluble en agua, en la piel la relación AN/UA de esta fracción disminuyó con la madurez. Esto sugiere que el metabolismo de pectinas en pulpa implica una mayor remodelación del RG-I en contraposición a la piel, en la que el metabolismo de poliurónidos no ramificados como el HG parece más importante. En cualquiera de los dos casos la mayor proporción de HG o la presencia de RG-I menos ramificado podrían determinar una mejor capacidad de gelificación de las pectinas de la piel respecto a las de la pulpa (Figura 3.16).

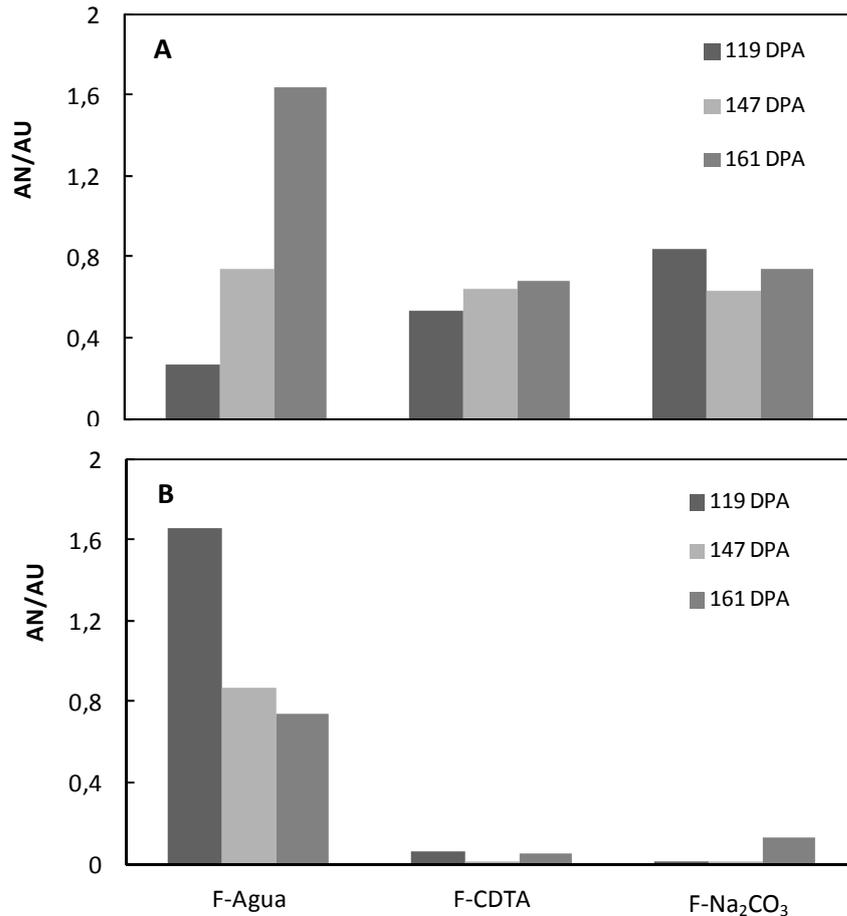


Figura 3.16. Proporción de AN/AU en las fracciones pécticas de de la pared celular de A) pulpa; B) piel de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA).

En los extractos de la pared celular de la piel, los AN solubles en F-Agua y la F-KOH 1M disminuyeron durante el progreso la maduración (Figura 3.15), contrariamente a lo observado en la pulpa en donde los AN solubles en agua aumentaron y los solubles en KOH 1M presentaron muy poca variación entre los estadios evaluados (Figura 3.9).

En el estadio de MT el contenido de AN fue más abundante en la F-KOH 1M (41%), seguido por la F-Agua y la F-KOH 4M con 33 y 23% respectivamente. En los estados de MM y SM los AN estuvieron mayoritariamente distribuidos en las F-KOH 4M y 1M de la pared, conformando el 47 y 35% respectivamente (Figura 3.15), mientras que en la pulpa las fracciones con mayor contenido de AN fueron la F-Agua y F-CDTA, sugiriendo en la piel una mayor proporción de hemicelulosa que en la pulpa.

3.1.2.3. Composición de polisacáridos de las pectinas y glicanos de entrecruzamiento

En forma similar a lo descrito en pulpa, la Ara seguida por la Gal, la Glc y la Xil, fueron los azúcares neutros más abundantes de la F-Agua en todos los estadios de madurez evaluados (Cuadro 3.3). En la pulpa de los frutos se observó un aumento marcado de los AN solubles en agua entre los estadios MT y SM, mientras que en la piel solo aumentaron la Xil y Glc. La acumulación de Xil se incrementó aproximadamente 6 veces y la de Gal aumentó dos veces y media entre el estadio inicial (119 DPA) y el final (161 DPA) (Cuadro 3.3).

En la F-Agua de la piel de los frutos la Ara disminuyó gradualmente durante el proceso de maduración, contrariamente a lo observado en la pulpa, sugiriendo una pérdida de ramificaciones de los RG-I. Del mismo modo, en las fracciones CDTA y Na_2CO_3 de la piel el comportamiento de la Ara fue inverso al observado en la F-Agua (Cuadro 3.3). Del análisis del grado y momento en que ocurren los cambios en el contenido de Ara entre las tres fracciones pécticas, no se puede decir que este azúcar se esté insolubilizando de la F-Agua.

Cuadro 3.3. Composición de azúcares neutros (g kg AIR^{-1}) de las fracciones pécticas de piel de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA).

Fracción	Estadio	Monosacáridos						
		Ram	Fuc	Ara	Xil	Man	Gal	Glc
F-Agua	119 DPA	2,1	0,4	23,0	1,6	2,5	15,1	4,0
	147 DPA	0,9	0,3	13,6	2,7	1,7	9,6	4,1
	161 DPA	1,4	0,3	9,3	3,2	1,9	9,4	5,7
F-CDTA	119 DPA	0,5	0,1	6,7	0,6	0,4	1,5	1,7
	147 DPA	0,8	0,2	7,5	0,6	0,4	2,6	0,4
	161 DPA	0,9	0,2	10,8	1,0	0,7	3,3	2,3
F- Na_2CO_3	119 DPA	0,4	-	13,5	1,2	-	0,8	0,5
	147 DPA	0,3	-	4,8	0,1	-	1,2	0,1
	161 DPA	0,4	0,7	16,2	0,8	-	2,6	-

En la F-KOH 1M hubo una mayor proporción de Glc y Xil que en la pulpa en donde la Ara fue el azúcar más abundante (Cuadros 3.4 y 3.2), sugiriendo una mayor presencia de hemicelulosa en la piel de los frutos. En este caso, el contenido de Xil aumentó entre el estadio MT y MM, de manera conjunta con una pérdida de Glc entre los mismos estadios de madurez mencionados anteriormente, que indicaría una liberación de hemicelulosa asociada a la celulosa entre estos primeros estadios.

En la F-KOH 4M se detectó un aumento de Glc entre los primeros estadios (119 y 147 DPA), pero posteriormente el contenido de Glc disminuyó en la fracción de glicanos fuertemente entrecruzados, mientras que la F-KOH 1M la Glc disminuyó paulatinamente con el avance de la madurez (Cuadro 3.4). Estos cambios en la Glc observados en la piel son opuestos a los que ocurrían en la pulpa, mostrando que el metabolismo entre ambas zonas de los frutos es diferente. Por las proporciones registradas de Glc y Xil en la piel de los frutos, se infiere que los cambios observados estarían produciéndose en el xiloglucano (XG).

Cuadro 3.4. Composición de azúcares neutros (g / kg AIR⁻¹) de las fracciones de glicanos de entrecruzamiento de piel de peras Bartlett, en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA) y sobre madurez o madurez tardía (SM, 161 DPA).

Fracción	Estadio	Monosacáridos						
		Ram	Fuc	Ara	Xil	Man	Gal	Glc
F-KOH 1M	119 DPA	0,6	0,4	6,2	7,4	1,2	1,3	35,6
	147 DPA	0,7	0,6	9,6	12,9	0,8	4,4	24,6
	161 DPA	0,7	0,4	6,0	7,3	1,5	2,9	15,5
F-KOH 4M	119 DPA	0,3	0,7	2,2	11,0	2,8	2,6	11,4
	147 DPA	0,4	2,2	3,9	20,5	5,8	7,5	28,3
	161 DPA	0,3	1,2	2,1	10,0	3,6	3,9	13,1

3.1.2.4. Despolimerización de pectinas y glicanos de entrecruzamiento

En general, no se observó una marcada despolimerización de las pectinas durante el proceso de maduración. De todos modos, a diferencia de lo observado en la pulpa, las reducciones de PM registradas en las pectinas fuertemente unidas (F- Na_2CO_3), se vieron luego de los 146 DPA (Figura 3.17). Este hecho es común con lo que ocurre en muchos frutos, en los que la despolimerización de las pectinas es un proceso tardío en el proceso de maduración. Por otra parte ratifica que la piel y la pulpa de los frutos presentaron comportamientos disimiles.

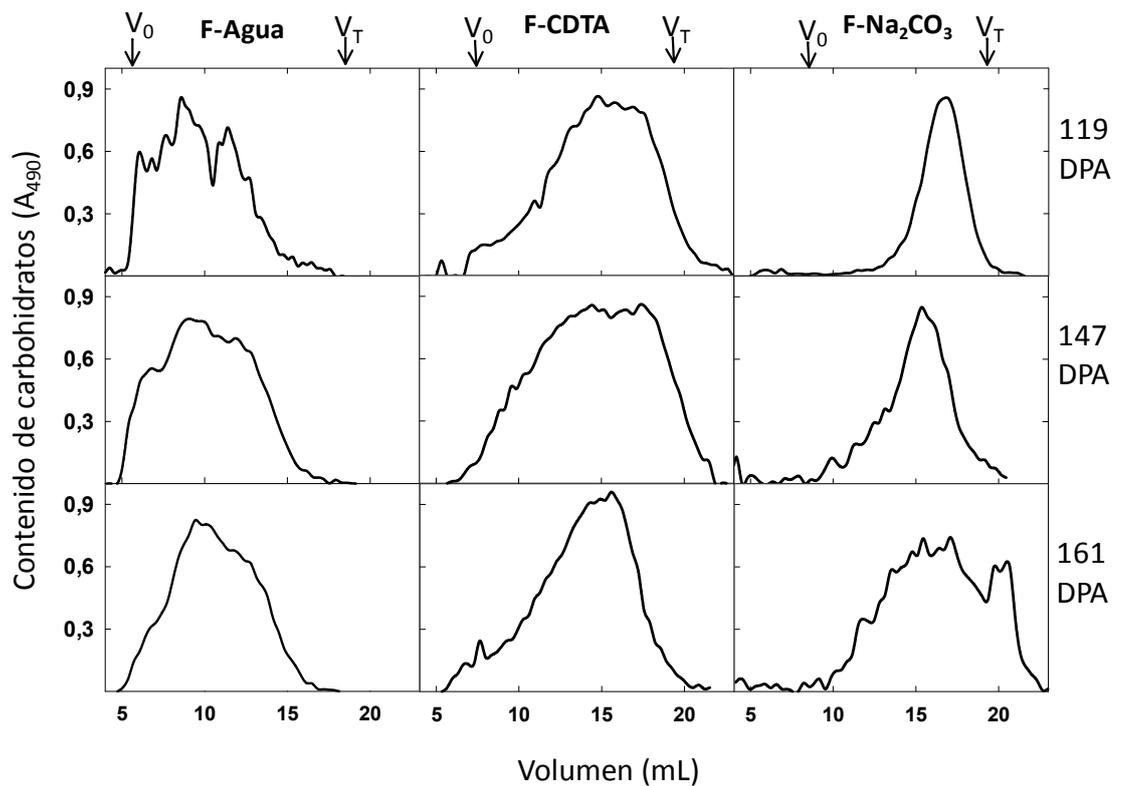


Figura 3.17. Cromatografía de exclusión molecular (SEC) de las fracciones Agua, CDTA y Na_2CO_3 (F-Agua, F- CDTA, F- Na_2CO_3 respectivamente) de piel de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA), y tardía o sobre madurez (SM, 161 DPA), en columna de Sepharose CL-6B (F-Agua) y CL-2B (F-CDTA y F- Na_2CO_3). V_0 , volumen muerto; V_b , volumen total.

Contrariamente a lo observado en la pulpa de las peras, en las fracciones extraídas con álcali no se observó una despolimerización importante en los glicanos de entrecruzamiento débil (F-KOH 1M) y fuertemente unidos (F-KOH 4M) (Figura 3.18).

Estos resultados muestran que el patrón de despolimerización de la piel de peras Bartlett que maduran en la planta difiere del observado en la pulpa de los frutos.

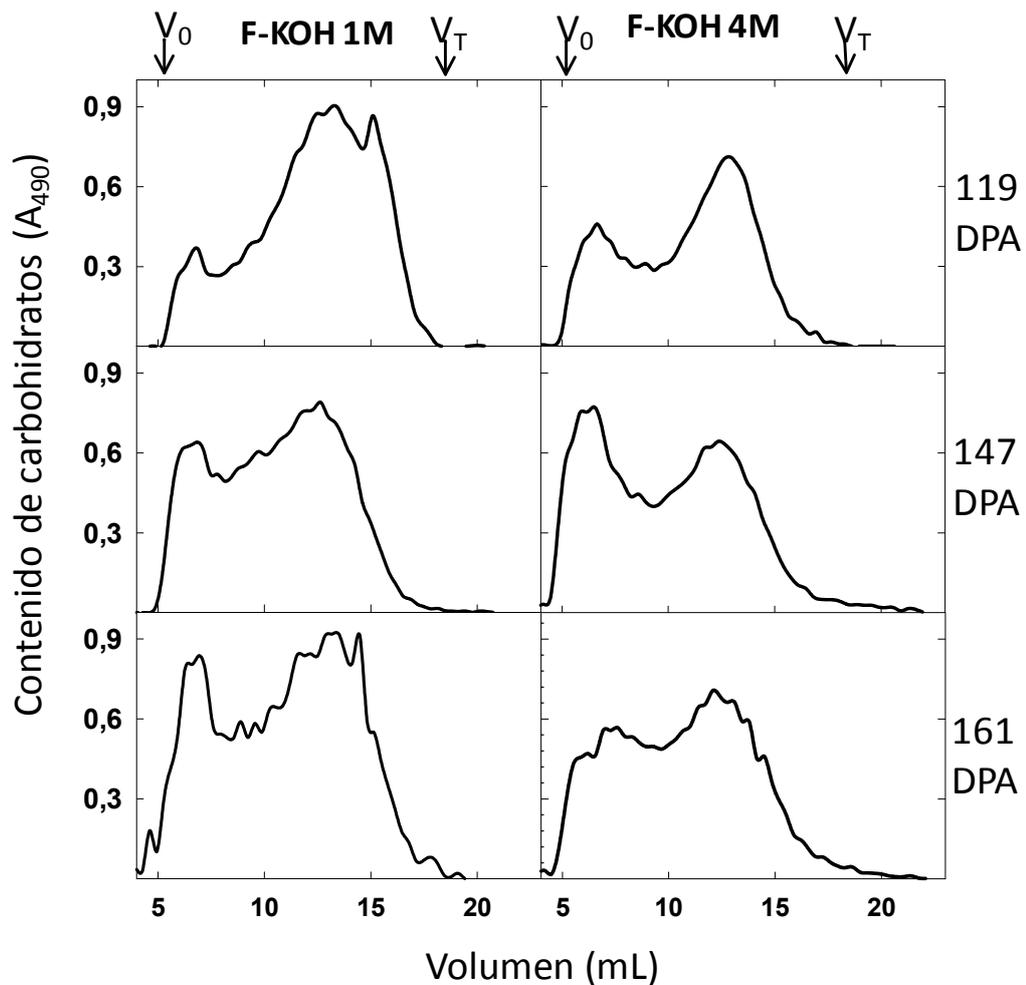


Figura 3.18. Cromatografía de exclusión molecular (SEC) de las fracciones KOH 1M y KOH 4M (F-KOH 1M y F-KOH 4M, respectivamente) de piel de peras Bartlett en un estadio de madurez temprano (MT, 119 DPA), madurez media (MM, 147 DPA), y tardía o sobre madurez (SM, 161 DPA), en columna de Sepharose CL-6B. V_0 , volumen muerto; V_t , volumen total.

3.2. Ensayo 2. Efecto de radiación solar recibida sobre la calidad y degradación de pared celular de los frutos.

3.2.1. Efecto de la radiación solar incidente y la temperatura sobre la firmeza e índices de madurez de pera cv. Bartlett

3.2.1.1. Condiciones precosecha

La Figura 3.19 presenta datos representativos de las condiciones de radiación fotosintéticamente activa (PAR) de la sección Norte y Sur de la espaldera de perales, para días con nubosidad y con cielo despejado. De su análisis se concluye que la sección Sur de las plantas, lugar que corresponde al ambiente donde se desarrollaron las peras del tratamiento Sombra recibió en promedio 6,5% (días soleados) y 12 % (días con nubosidad) de la radiación PAR que incide en la sección Norte, en la que se ubican los frutos del tratamiento Sol. Los datos presentados son representativos de las condiciones reinantes durante el período del ensayo. El 71% de los días que duró el ensayo mostró el patrón de marcha de radiación correspondiente a los días soleados (Figura 3.19 B).

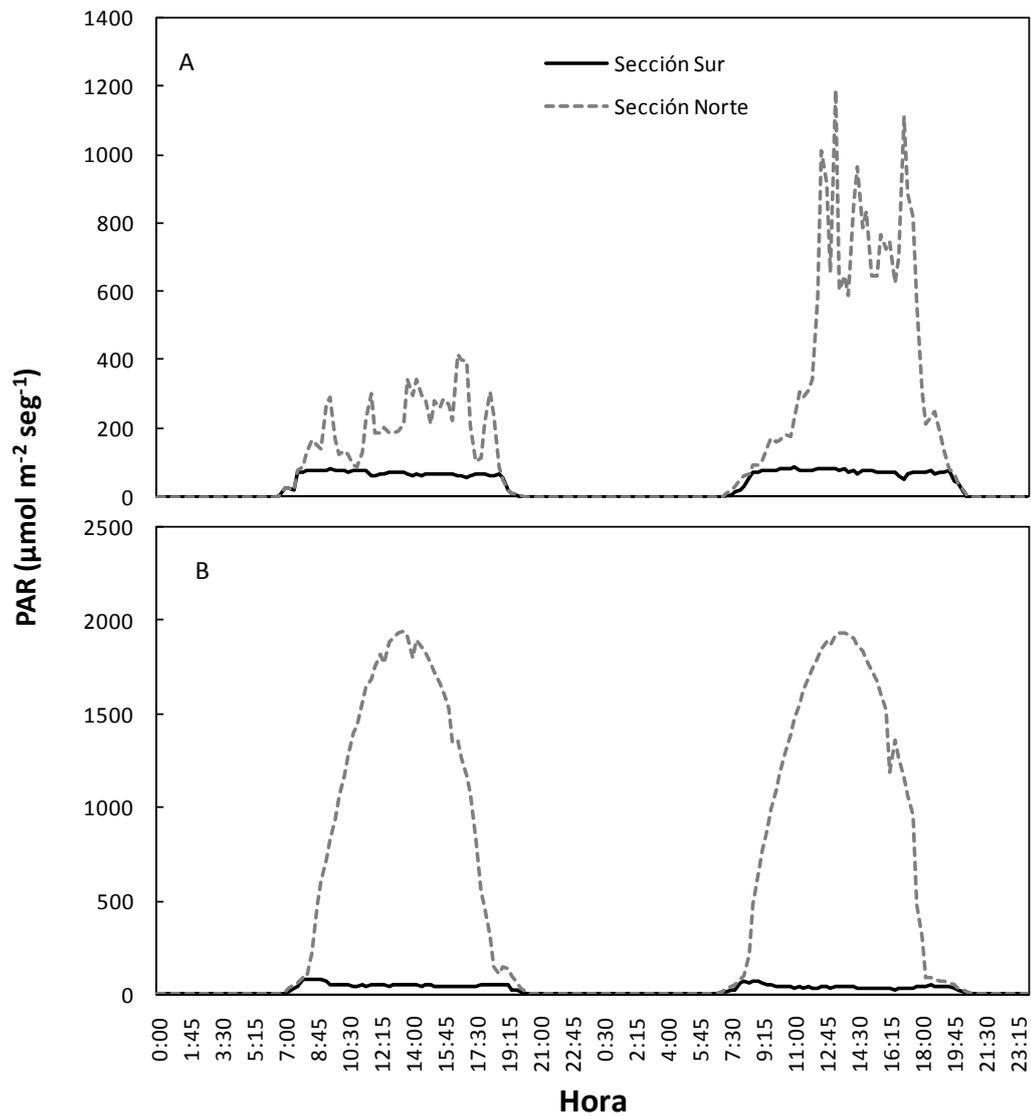


Figura 3.19. *Marcha de la radiación fotosintéticamente activa (PAR) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en la sección norte y sur de la espaldera de peras Bartlett A) en dos días con nubosidad y B) en dos días con cielo despejado.*

Se determinó el peso específico de las hojas de peral previo al momento de cosecha en los dos tratamientos, con el fin de evaluar el efecto de las bajas condiciones de radiación solar sobre el follaje de los árboles (Figura 3.20). Las hojas del tratamiento Sombra presentaron un peso específico menor al de las del tratamiento Sol.

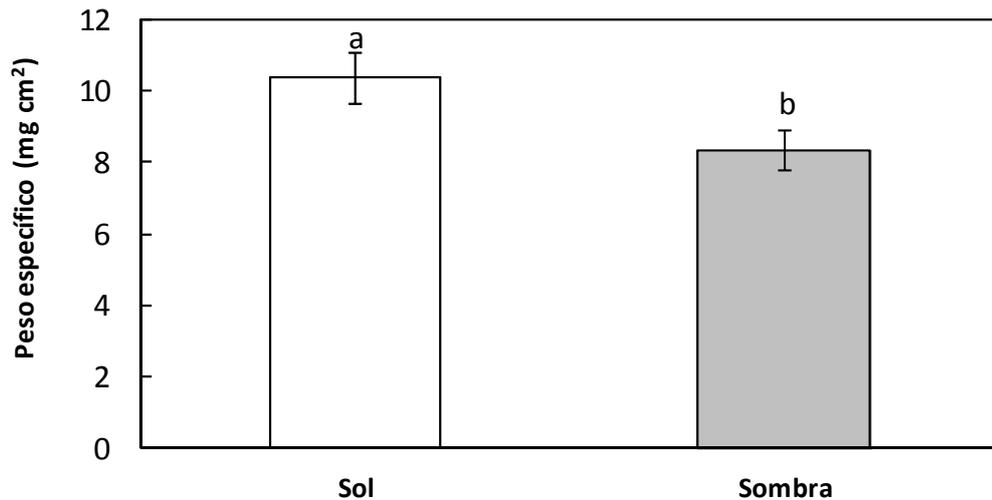


Figura 3.20. *Peso específico de hojas de brote de peras Bartlett una semana antes de la cosecha para los tratamientos Sol y Sombra. Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 120$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.*

La cara expuesta de los frutos del tratamiento sol presentó valores de temperatura de pulpa superiores a la temperatura media del aire, mientras que la temperatura de la cara expuesta de los frutos sombreados presentó valores muy similares a los del aire durante todo el día, con excepción del período entre las 11:30 y las 18:00 en el que también superó a la del aire (Figura 3.21). De todos modos, se observó claramente que la temperatura de las peras soleadas llegó a ubicarse unos 15 °C por encima de las peras sombreadas entre las 9:00 y las 14:00. Posteriormente si bien las diferencias entre peras a la sombra y al sol fueron menores, estas últimas presentaron en todos los casos mayor temperatura de pulpa.

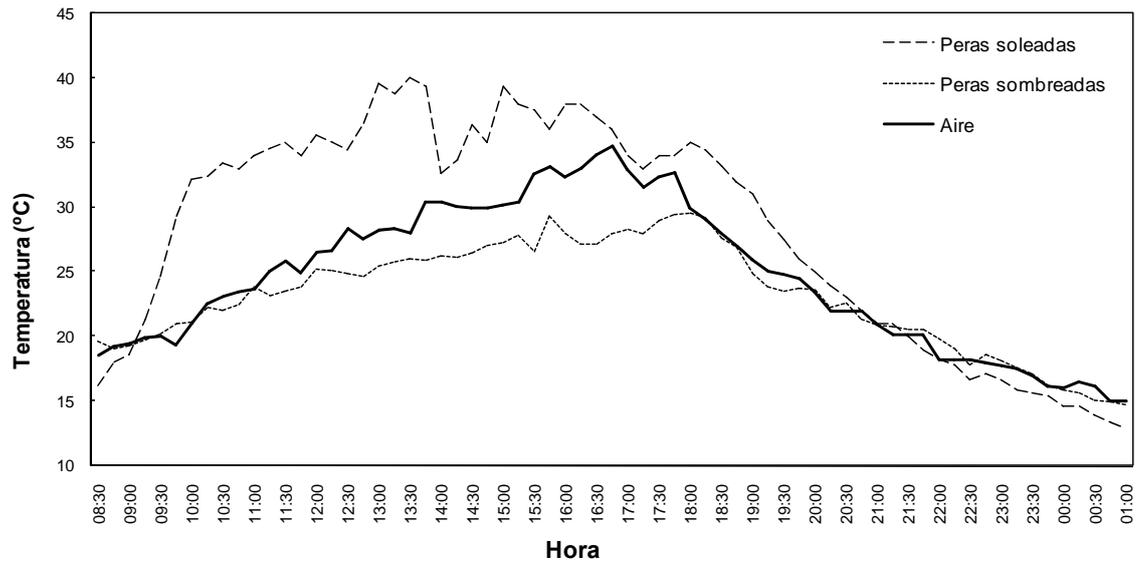


Figura 3.21. Evolución diaria de la temperatura de la cara expuesta de frutos en los tratamientos Sol y Sombra y de la temperatura media de aire al comienzo de la temporada de verano.

En la cara no expuesta de los frutos de ambos tratamientos, la temperatura de pulpa siguió la marcha de la temperatura promedio de aire y presentó valores menores a esta durante las horas más cálidas del día (Figura 3.22), demostrando de esta manera la trascendencia de la radiación solar directa en el calentamiento de los frutos.

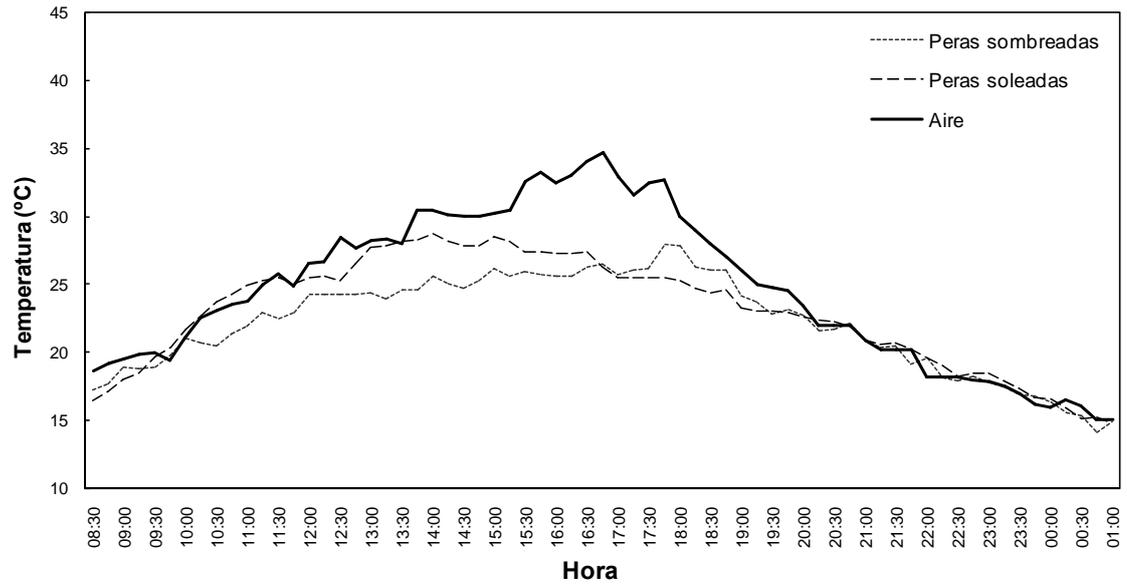


Figura 3.22. Evolución diaria de la temperatura de la cara no expuesta de frutos en los tratamientos Sol y Sombra y de la temperatura media de aire al comienzo de la temporada de verano.

Se registró un gradiente de temperatura entre la pulpa de la cara expuesta (CE) y no expuesta (CNE) de los frutos de los tratamientos Sol, con una diferencia que alcanzó los 12 °C en las horas más cálidas de un día sin nubosidad (Figura 3.23).

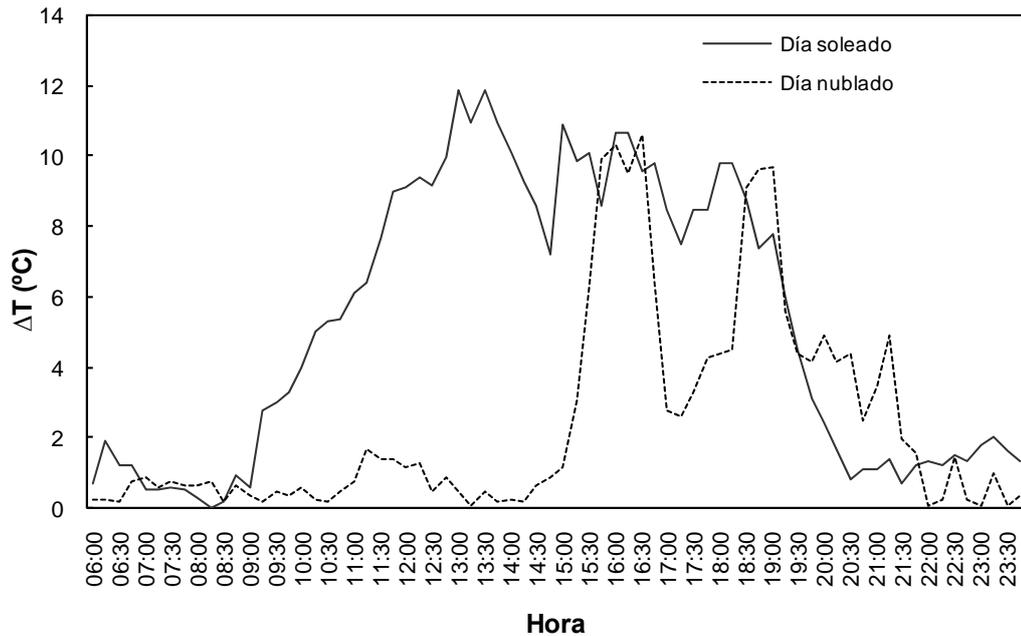


Figura 3.23. *Marcha del diferencial de temperatura medido (ΔT) entre la cara expuesta y no expuesta de frutos del tratamiento Sol durante un día cálido y con cielo despejado (Temperatura máxima de aire 39,1 °C) y durante un día cálido y con nubosidad (Temperatura máxima de aire 38,3 °C).*

Al medir la temperatura de la superficie de los frutos (TSF) mediante el empleo de un termómetro infrarrojo en un día con temperatura media de aire superior a 30 °C, el tratamiento sol registró en la cara expuesta 10 °C de temperatura promedio más que la cara no expuesta. En cambio, en el tratamiento Sombra no se observaron grandes diferencias entre ambas caras (Figura 3.24). En un día en que la temperatura media del aire osciló entre los 23 °C y 24 °C en el momento de las mediciones, la diferencia entre la cara expuesta y no expuesta de los frutos del tratamiento sol fue de 4,5 °C promedio (Figura 3.24).

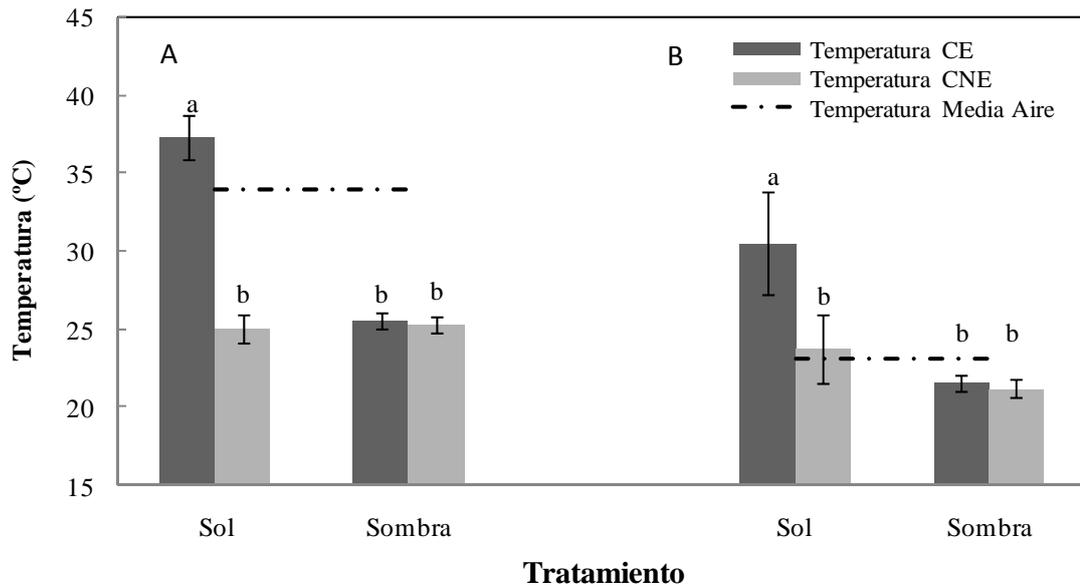


Figura 3.24. Temperatura superficial de la cara expuesta y no expuesta de frutos en los tratamientos Sol y Sombra. A) en un día con temperatura media de aire 34 °C; B) en un día con temperatura promedio de aire 23 °C. Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 30$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

Los efectos que ejercen la luz y la temperatura sobre la calidad de los frutos no pueden ser discriminados en las condiciones del ensayo realizado, ya que existe una correlación positiva entre ambos, observándose siempre que los frutos expuestos a la radiación presentan simultáneamente valores mayores de temperatura. Por lo tanto, en todos los efectos observados a nivel de madurez de los frutos y pared celular que se analizan luego, debe tenerse en cuenta que los mismos resultan de la conjunción de la influencia directa de la luz (ya sea de su intensidad y o calidad) y su efecto indirecto derivado en un incremento de la temperatura.

3.2.1.2. Determinación del momento óptimo de cosecha

Las peras se recolectaron cuando los índices de madurez del lote fueron los apropiados para una óptima conservación: tamaño promedio de 68,9 mm, firmeza de pulpa promedio de 91 N, contenido de sólidos solubles 10,6 % p/p, acidez (medida como ácido málico) de 3,5 g/L y degradación de almidón promedio de 25%.

3.2.1.3. Contenido de sólidos solubles, acidez titulable, degradación de almidón y firmeza

No se observaron diferencias significativas en el contenido de sólidos solubles ni en la acidez titulable entre las peras de los tratamientos Sol y Sombra (Figura 3.25). Por otra parte, las peras expuestas al sol presentaron valores menores de *hue* y *L** que las peras del tratamiento sombra. La reducción en el valor *hue* indica un cambio en el color de la piel de un verde claro a un rojizo ocasionado por una mayor incidencia de radiación sobre los frutos. Adicionalmente la reducción del valor de *L** indica un color más oscuro.

No se observaron diferencias significativas en el porcentaje de degradación de almidón determinada con lugol en una sección transversal de los frutos de los tratamientos Sol y Sombra.

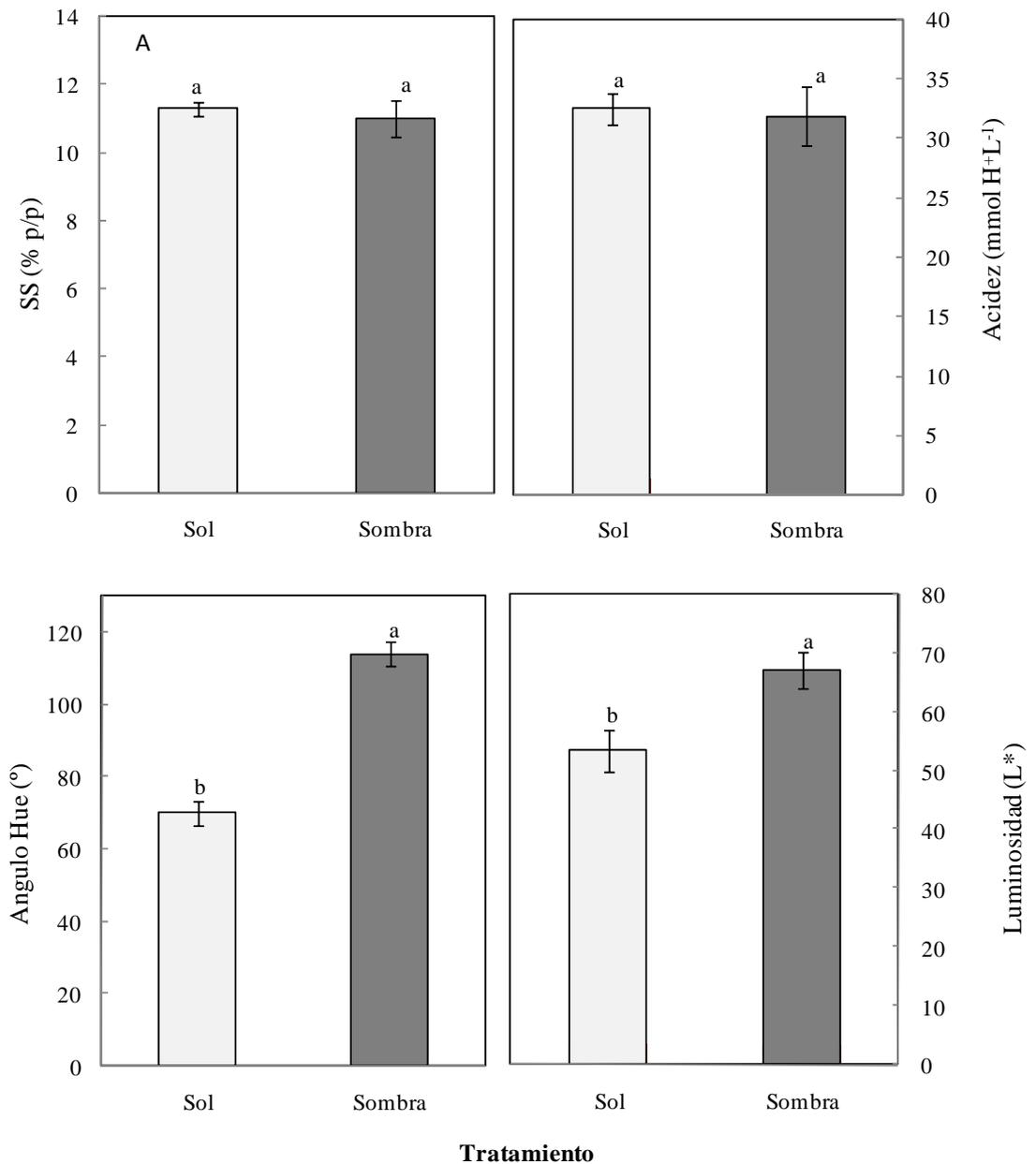


Figura 3.25. Sólidos solubles, acidez titulable y color: ángulo de matiz o hue y luminosidad de peras Bartlett que crecieron en dos condiciones diferentes de exposición a la radiación solar en el campo (Sol y Sombra) al momento de cosecha. Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 40$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

Al momento de cosecha, los frutos del tratamiento Sol presentaron mayores valores de firmeza que los del tratamiento Sombra, en ambas caras de los frutos (Figura 3.26). Valores de firmeza más altos se correlacionaron con mayores niveles de radiación (ver Figuras 3.19).

Luego de almacenar los frutos por 13 días a 20 °C, se registró una fuerte disminución de la firmeza, con respecto al momento de cosecha. Las peras ‘Bartlett’ se consideran ‘maduras para consumo’ cuando la firmeza de la pulpa alcanza valores de aproximadamente 9 a 18 N. Si bien ambos tratamientos presentan valores de firmeza inferiores a los requeridos para la comercialización tanto a ultramar (67 N) como a países limítrofes (53 N), las peras del tratamiento soleado presentaron una firmeza en la cara expuesta y no expuesta dentro del rango óptimo para el consumo (12,9 y 10,3 N) (Figura 3.26).

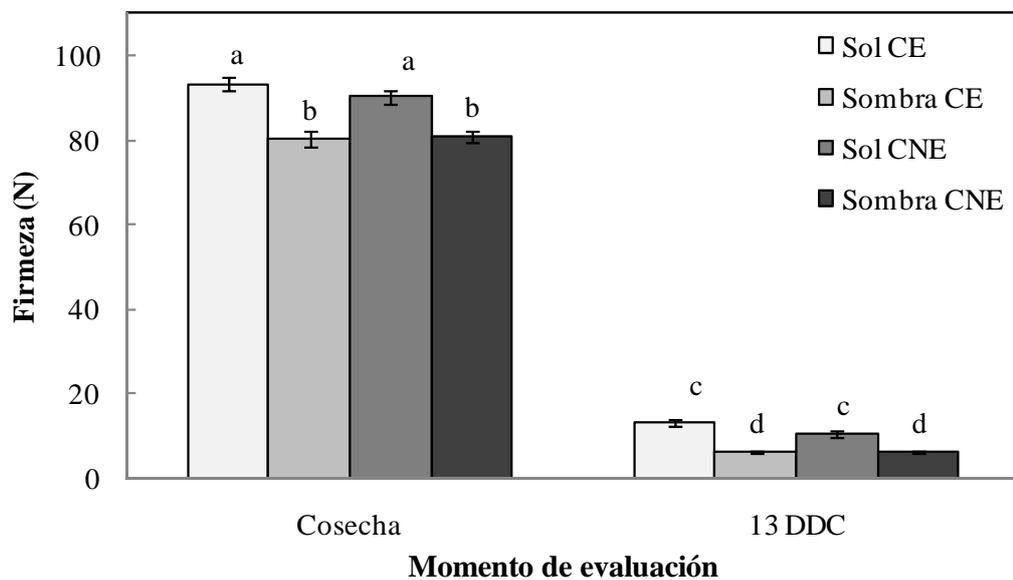


Figura 3.26. Firmeza de la cara expuesta (CE) y no expuesta (CNE) de peras Bartlett desarrolladas con diferente grado de exposición a la luz solar (sol y sombra), al momento de cosecha y luego de 13 días a 20 °C (13 DDC). Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 30$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

3.2.2. Efecto de la radiación solar incidente y la temperatura sobre la estructura y composición de pared celular de pera cv. Bartlett

3.2.2.1. Rendimiento de pared celular

Al momento de la cosecha el rendimiento promedio de los residuos insolubles en alcohol (AIR) fue similar en ambos tratamientos (Figura 3.27). Luego de almacenar los frutos por 13 d a 20 °C, se registró una disminución en el rendimiento de AIR en ambos tratamientos, sin observarse diferencias significativas (Figura 3.27).

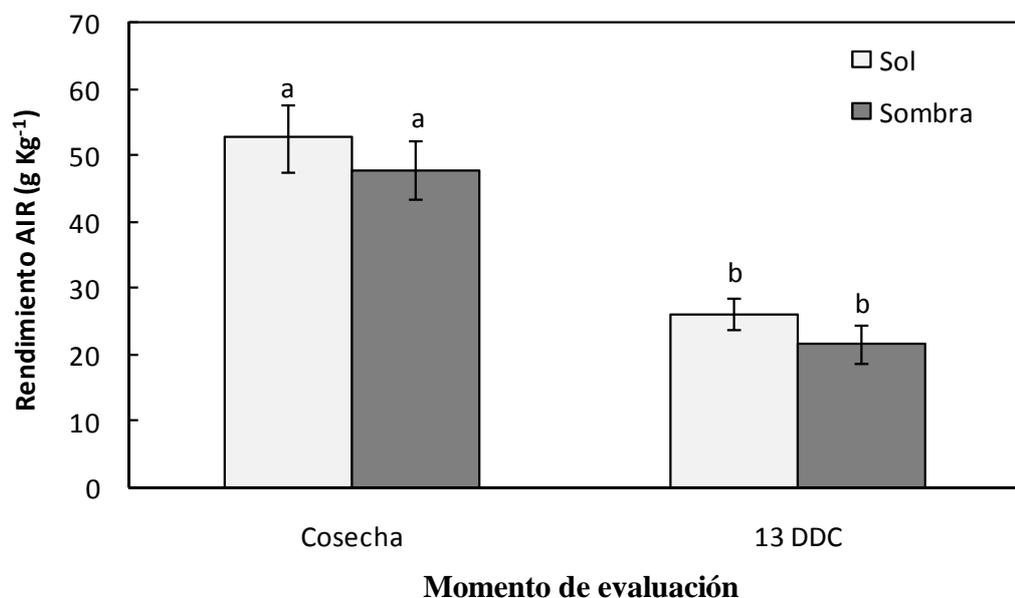


Figura 3.27. Rendimiento de AIR de peras Bartlett desarrolladas con diferente grado de exposición a la luz solar (Sol y Sombra), al momento de cosecha y luego de 13 días a 20 °C (13 DDC). Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 3$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

Debido a que las diferencias observadas en firmeza entre las peras del tratamiento Sol y Sombra, no estaban relacionadas con los cambios en el rendimiento de AIR, se procedió a caracterizar a este residuo, para evaluar la estructura y composición de los polímeros específicos de la pared celular.

3.2.2.2. Solubilización, composición de azúcares neutros y despolimerización de fracciones pécticas

Al momento de cosecha la proporción de ácidos urónicos solubilizados en la fracción acuosa (F-Agua) con respecto a aquellos solubilizados con CDTA fue mayor en las peras soleadas (Cuadro 3.5). Los poliuronidos solubles en la fracción Na_2CO_3 representaron los componentes más abundantes de las pectinas y no se observaron diferencias entre los tratamientos. Los ácidos urónicos solubles en la fracción KOH 1M fueron mayores en las peras expuestas al sol, mientras que la fracción KOH 4M no se observaron diferencias (Cuadro 3.5).

Durante el proceso de maduración (luego de 13 días de almacenamiento a 20 °C) la proporción de ácidos urónicos solubles en las fracciones agua aumentó en el tratamiento Sombra y se mantuvo sin cambios en las peras del tratamiento Sol. Sumando la proporción de ácidos urónicos solubles en las fracciones pécticas más débilmente unidas (agua + CDTA) se observó un aumento con respecto al momento de cosecha en ambos tratamientos (Cuadro 3.5). Esto se dio de manera conjunta con una reducción del contenido de ácidos urónicos en la fracción Na_2CO_3 ; esta reducción fue más marcada en las peras del tratamiento Sombra (Cuadro 3.5).

Cuadro 3.5. *Extractabilidad de ácidos urónicos (g/100 g fracción) de la pared celular de peras Bartlett en agua, CDTA, Na₂CO₃, KOH 1M y 4M, para los tratamientos con diferente grado de exposición a la luz solar (Sol y Sombra), al momento de cosecha y luego de 13 días de almacenamiento a 20 °C (13 DCC)^a.*

Fracción	Cosecha		13 DDC	
	Sol	Sombra	Sol	Sombra
F-Agua	26,0 ± 0,4 b	4,1 ± 0,2 c	27,0 ± 0,3 b	41,6 ± 0,3 a
F-CDTA	8,2 ± 1,6 d	35,1 ± 1,5 a	25,6 ± 0,2 c	29,9 ± 0,6 b
F-Na₂CO₃	59,4 ± 1,4 a	59,0 ± 0,6 a	42,5 ± 0,2 b	20,2 ± 0,6 c
F- KOH 1M	4,7 ± 0,0 a	0,7 ± 0,6 b	4,9 ± 0,1 a	5,6 ± 0,5 a
F- KOH 4M	1,7 ± 0,3 b	1,1 ± 0,4 b	0,1 ± 0,6 c	2,7 ± 0,1 a

^a Los valores representan la media ± DS (n = 3). Diferentes letras dentro de cada fracción (fila) indican diferencias significativas entre los distintos estadios en un test de Tukey con un nivel de significancias de $P < 0,05$.

Las pectinas débilmente (F-agua), iónicamente (F-CDTA) y fuertemente (F-Na₂CO₃) unidas resultaron ser especialmente ricas en Ara y en menor medida en otros azúcares como Gal, Xil, Ram y Glu (Cuadro 3.6). Durante la maduración se observó una importante pérdida de Ara en las pectinas fuertemente unidas de ambos tratamientos, siendo esta reducción más marcada en las peras del tratamiento Sombra y que se dio paralelamente con un enriquecimiento este azúcar en la fracción soluble en agua (Cuadro 3.6). Luego de 13 d a 20 °C la Ara representó en base molar, el 79% de

los azúcares neutros de la F-agua de las peras del tratamiento Sombra y sólo el 56% de las peras del tratamiento Sol.

Cuadro 3.6. *Composición de azúcares neutros (mol/100 moles) de las fracciones pécticas de peras Bartlett en los tratamientos con diferente grado de exposición a la luz solar (Sol y Sombra) al momento de cosecha y luego de 13 días de almacenamiento a 20 °C (13 DDC).*

Fracción	Tratamiento	Monosacáridos						
		Ram	Fuc	Ara	Xil	Man	Gal	Glc
F-Agua	Sol a cosecha	11	2	79	1	1	4	2
	Sombra a cosecha	4	3	55	9	3	14	12
	Sol+13 DDC	4	2	56	10	2	13	13
	Sombra +13 DDC	4	1	79	7	-	5	4
F-CDTA	Sol a cosecha	4	1	42	8	3	29	13
	Sombra a cosecha	7	1	76	2	-	12	3
	Sol+13 DDC	4	1	67	7	2	13	6
	Sombra +13 DDC	4	1	81	6	-	5	3
F-Na ₂ CO ₃	Sol a cosecha	8	Tr.	84	2	-	6	-
	Sombra a cosecha	3	Tr.	79	1	-	17	-
	Sol+13 DDC	5	1	72	3	-	18	1
	Sombra +13 DDC	9	2	59	10	2	16	2

Al momento de cosecha no se observaron grandes diferencias en el tamaño de las pectinas solubles en agua entre los tratamientos Sol y Sombra. Los poliurónidos

solubles en CDTA del tratamiento Sombra mostraron un peso molecular ligeramente mayor que los del tratamiento Sol, mientras que ocurrió lo contrario en los de la F- Na_2CO_3 (Figura 3.28).

Luego de 13 d a 20 °C se observó una leve depolimerización de pectinas en ambos tratamientos. La única diferencia destacable ocurrió en la F-agua, donde la proporción de poliurónidos de mayor peso, representados por pico de elución a volúmenes bajos, decreció más en las peras del tratamiento Sombra. Con la maduración se observó una ligera disminución del peso molecular de los poliurónidos en las F-CDTA y F- Na_2CO_3 , en ambos casos sin observarse diferencias entre el tratamiento Sol y Sombra (Figura 3.28).

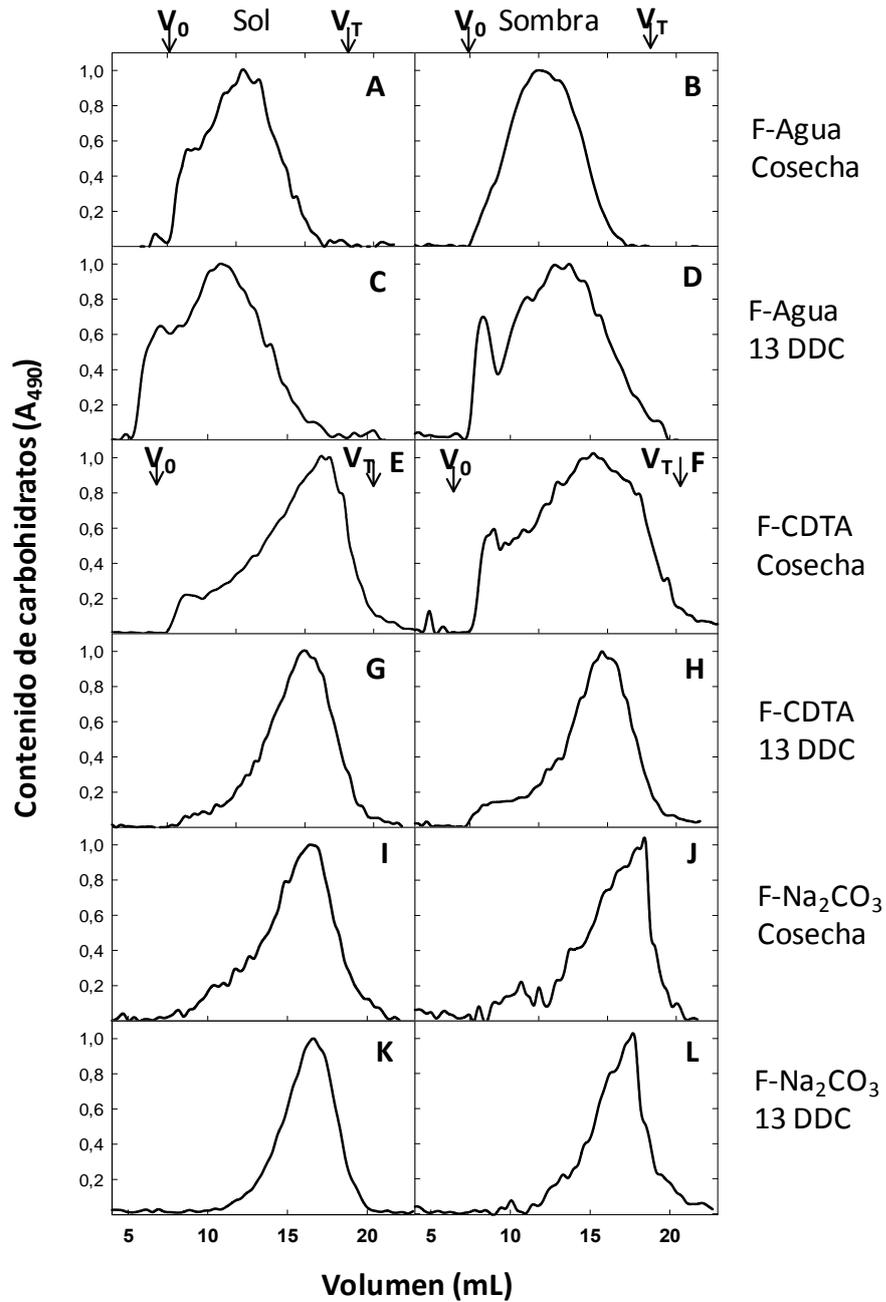


Figura 3.28. Perfiles de cromatografía de exclusión molecular de peras Bartlett del tratamiento Sol (A,C,E,G,I,K) y Sombra (B,D,F,H,J,L) al momento de cosecha (A,B,E,F,I,J) y luego de 13 d de almacenamiento a 20 °C (13 DDC) (C,D,G,H,K,L). A-D. F-Agua en columna de Sepharose CL-6B. E-H F-CDTA en columna de Sepharose CL-2B Col. I-L F-Na₂CO₃ en columna de Sepharose CL-2B. V₀, Volumen muerto; V_t, Volumen total.

3.2.2.3. *Solubilización, composición de azúcares neutros y despolimerización de los glicanos de entrecruzamiento*

Al momento de cosecha la glucosa (Glc) fue el principal monosacárido de las F-KOH 1M y F-KOH 4M, seguido por la Xil, Ara y Gal (Cuadro 3.7). Luego de 13 d a 20 °C se observó un aumento de Ara y Xil simultáneamente con una disminución de Glc en las hemicelulosas más débilmente unidas (F-KOH 1M).

Cuadro 3.7. *Composición de azúcares neutros (mol/100 moles) de los glicanos de entrecruzamiento de peras Bartlett en los tratamientos con diferente grado de exposición a la luz solar (Sol y Sombra) al momento de cosecha y luego de 13 d de almacenamiento a 20 °C (13 DDC).*

Fracción	Tratamiento	Monosacáridos						
		Ram	Fuc	Ara	Xil	Man	Gal	Glc
	Sol a cosecha	1	2	14	15	2	8	58
F-KOH 1M	Sombra a cosecha	1	1	16	18	3	9	52
	Sol+13 DDC	3	2	45	21	2	13	14
	Sombra +DDC	3	2	35	37	3	7	13
	Sol a cosecha	Tr.	3	4	19	3	9	62
F- KOH 4M	Sombra a cosecha	1	3	6	23	5	11	51
	Sol+13 DDC	1	3	12	35	6	13	30
	Sombra +13 DDC	1	5	7	39	7	11	30

En el momento de la cosecha, las peras del tratamiento Sol tuvieron una mayor proporción de AN en las fracciones KOH 1M y 4M que los frutos del tratamiento Sombra que presentó un mayor contenido de AN en la F-Na₂CO₃, (Cuadro 3.8).

Al madurar, se observó que la distribución de AN en los frutos del tratamiento Sombra mostró una mayor solubilización que en el caso de las peras del tratamiento Sol (Cuadro 3.8).

Cuadro 3.8. *Extractabilidad de azúcares neutros (g/100 g fracción) de la pared celular de peras Bartlett en agua, CDTA, Na₂CO₃, KOH 1M y 4M, para los tratamientos con diferente grado de exposición a la luz solar (Sol y Sombra), al momento de cosecha y luego de 13 d de almacenamiento a 20 °C (13 DDC) ^{a,b}.*

Fracción	Cosecha		13 DDC	
	Sol	Sombra	Sol	Sombra
F-Agua	1,8 ± 0,4 c	3,9 ± 0,9 c	16,8 ± 0,2 b	24,3 ± 0,2 a
F-CDTA	3,5 ± 0,6 b	4,2 ± 0,7 b	13,6 ± 0,2 a	12,8 ± 0,2 a
F-Na₂CO₃	14,8 ± 0,7 c	47,1 ± 0,9 a	32,9 ± 0,2 b	8,7 ± 0,4 d
F- KOH 1M	34,0 ± 0,5 a	16,0 ± 0,8 c	10,9 ± 0,2 d	23,1 ± 0,4 b
F- KOH 4M	45,8 ± 1,0 a	28,7 ± 0,6 c	25,8 ± 0,3 d	31,2 ± 0,4 b

^a Obtenidas luego de restar el contenido de ácidos urónicos al total de carbohidratos (ver materiales y métodos). ^b Los valores representan la media ± DS (n = 3). Diferentes letras dentro de cada fracción (fila) indican diferencias significativas entre los distintos estadios en un test de Tukey con un nivel de significancias de $P < 0,05$.

La cromatografía de exclusión molecular (SEC) mostró que los glicanos entrecruzantes extraídos en la F-KOH 1M fueron diferentes en cuanto a su peso molecular, que los extraídos en la F-KOH 4M (Figura 3.29). A cosecha la F-KOH 1M

presentó un pico marcado correspondiente a glicanos de alto peso molecular conjuntamente con una zona de glicanos de peso medio, que no presentó grandes variaciones ni con las condiciones de luz en precosecha ni con el estado de madurez de los frutos (Figura 3.29).

En la F-KOH 4M al momento de cosecha, las peras del tratamiento sol mostraron glicanos entrelazantes con mayor peso molecular medio que los frutos del tratamiento sombra (Figura 3.29). El proceso de despolimerización progresó durante el almacenamiento a 20 °C en los frutos de ambos tratamientos, pero luego de la madurez, los frutos del tratamiento Sol mostraron una menor proporción de glicanos de entrecruzamiento de bajo peso molecular que los del tratamiento Sombra.

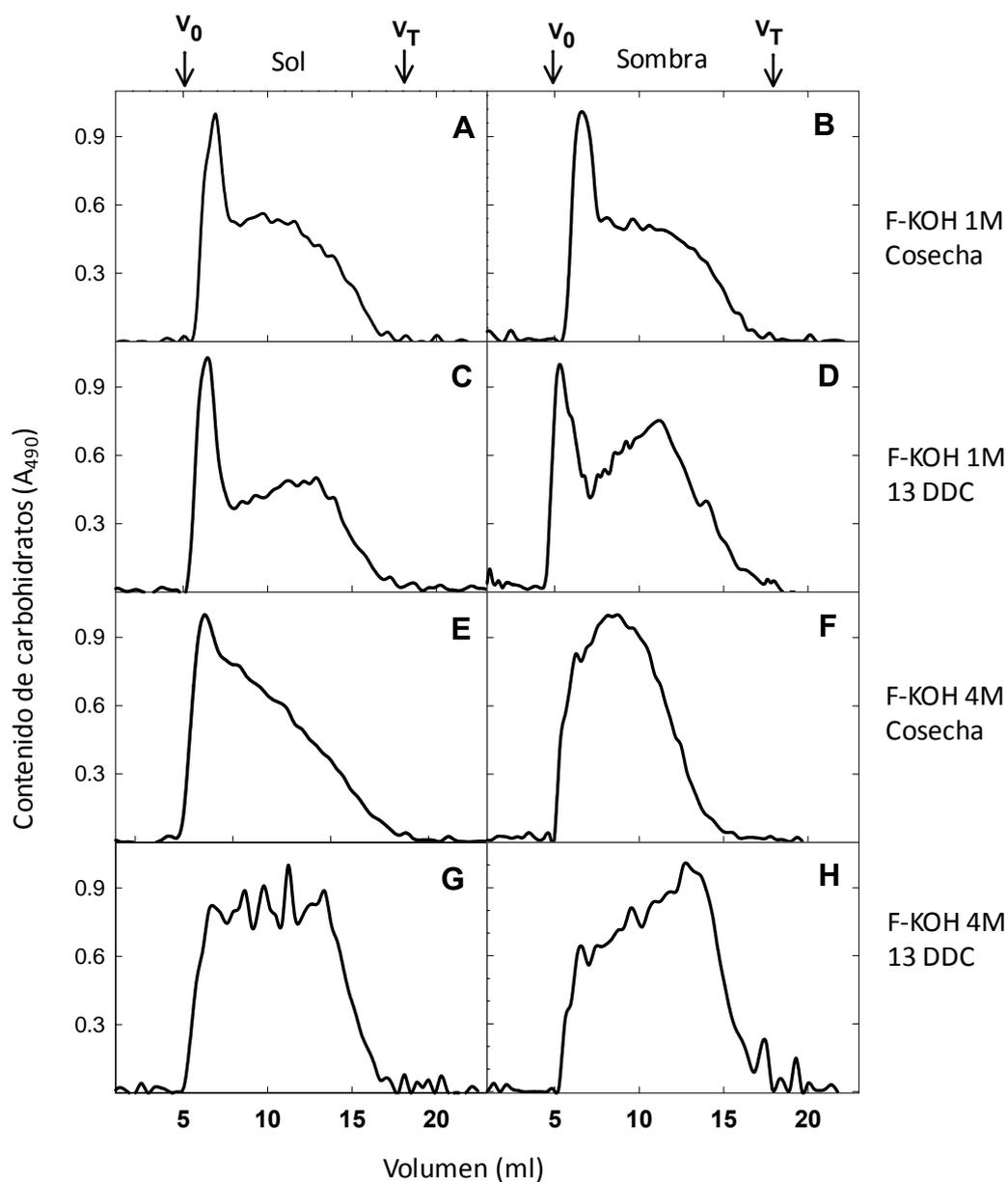


Figura 3.29. Perfiles de cromatografía de exclusión molecular de peras Bartlett del tratamiento Sol (A,C,E,G) y Sombra (B,D,F,H) al momento de cosecha (A,B,E,F), y luego de 13 d de almacenamiento a 20 °C (13 DDC) (C,D,G,H). A-D: F- 1 M KOH y E-H: F- 4 M KOH en columna de Sepharose CL-6B. V_0 , Volumen muerto; V_b , Volumen total.

3.3. Ensayo 3. Efecto de radiación PAR y UVB sobre la calidad y ablandamiento de los frutos.

3.3.1. Ensayos preliminares de discriminación del efecto de la radiación y de la temperatura sobre el metabolismo de pared y ablandamiento de pera Bartlett

A fin de comenzar a discriminar los efectos de la radiación solar observados en el capítulo anterior, identificando la influencia de la temperatura o a las radiaciones provenientes de diferentes regiones del espectro electromagnético, se evaluó la firmeza de frutos de Sol y Sombra en comparación con otros dos tratamientos en los que se colocaron films entre el sol y las plantas expuestas y que provocaron una disminución de la radiación fotosintéticamente activa (PAR) y/o de la radiación UVB (Fotografía 3.1). En todos los casos la diferencia de temperatura fue menor a 2 °C.



Fotografía 3.1. Vista de un bastidor con una película utilizada y que redujo la PAR sin ocasionar marcadas diferencias en la temperatura de los frutos.

A su vez uno de los films utilizados presentó alta transmitancia en la región UVB (Stretch), mientras que el segundo absorbía en forma prácticamente total a esta radiación (Mylar-D) (Figura 3.30).

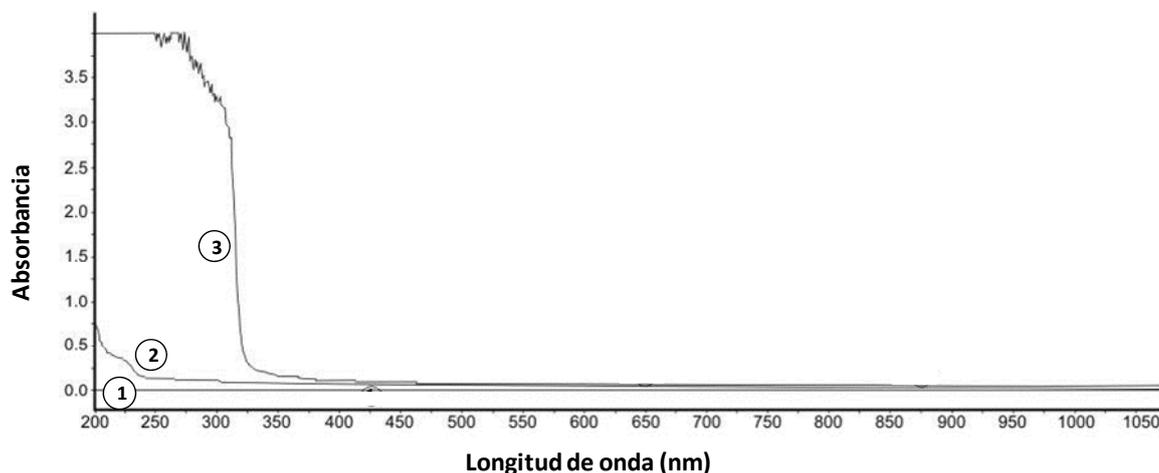


Figura 3.30. Espectro de absorción (200 a 1.100 nm) de 1-control (sin película), 2-Stretch y 3- Mylar-D.

3.3.1.1. Condiciones de precosecha

En las determinaciones realizadas en los bastidores a campo, la película Stretch, retuvo un promedio de 8,5% de la radiación UVB mientras que la Mylar-D lo hizo en un 75,5% (Figura 3.31). Es posible que la pequeña fracción de radiación no transmitida en el primer caso se haya debido al depósito de polvo que se produjo sobre las películas en condiciones de campo. En el caso de la película Mylar-D, si bien el sensor fue colocado en la parte central del bastidor, al estar los laterales abiertos parte de la radiación era aún recibida a través de los laterales (ver Fotografía 2.1 en materiales y métodos). De todos modos se observaron claras diferencias en la radiación UVB recibida por los árboles ubicados detrás de las dos películas.

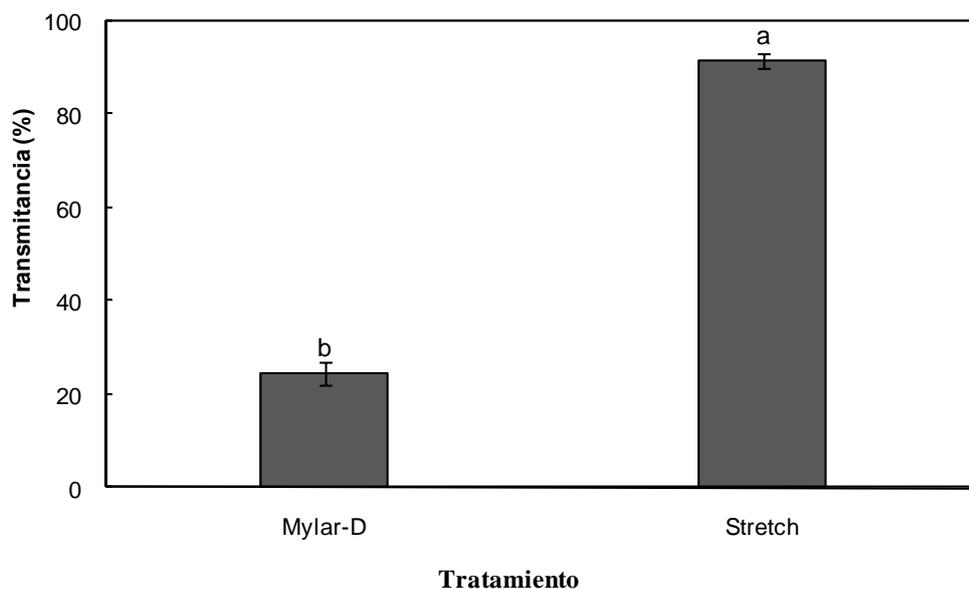


Figura 3.31. Porcentaje de transmitancia de radiación UVB para las películas Mylar-D y Stretch en bastidores colocados a campo. Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 20$). Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

La radiación PAR registrada en los sensores ubicados bajo los dos tratamientos Stretch y Mylar-D, fue en ambos casos y en promedio cerca de 20%, por debajo que la radiación incidente total detectada por los sensores ubicados sobre los películas (Figura 3.32). Por lo tanto, si bien las películas no deberían impedir el paso de la radiación fotosintéticamente activa (Figura 3.30), en condiciones de campo sí lo hicieron y en forma apreciable probablemente debido al depósito de polvo sobre las mismas. A pesar de esto, no se observaron diferencias significativas entre el peso específico de las hojas de los tratamientos Stretch (10,48 mg.cm²), Mylar-D (9,85 mg.cm²) y Sol (10,36 mg.cm²) ($p < 0,986$).

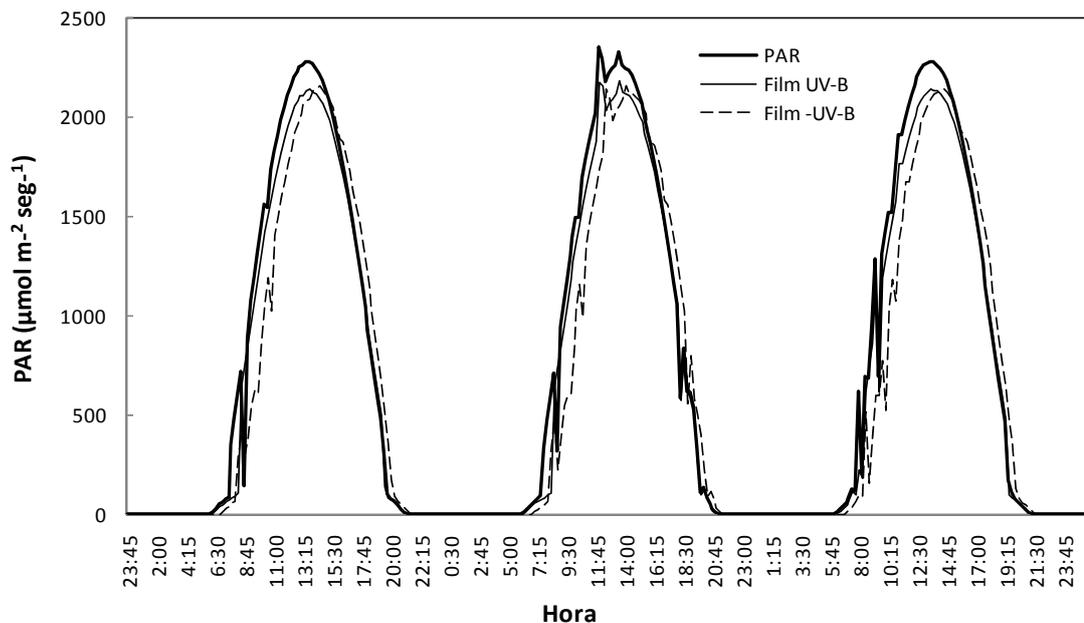


Figura 3.32. *Marcha de la radiación PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) durante 3 días en los tratamientos Mylar-D (sensor colocado bajo película Mylar-D), Stretch (sensor colocado bajo película Stretch) y PAR (sensor colocado sobre los paneles).*

Al analizar la temperatura de pulpa de la cara expuesta (CE) de los frutos de los tratamientos Mylar-D y Stretch (Figura 3.33) se observó un comportamiento similar al de los frutos del tratamiento Sol (Ensayo 2). La temperatura de las peras en ambos tratamientos con películas fue superior a la temperatura media de aire entre las 9:00 y las 17:00 hs. Al final del día (a partir de las 22:00 hs), la temperatura de la pulpa de los frutos con films fue levemente superior a la temperatura media de aire.

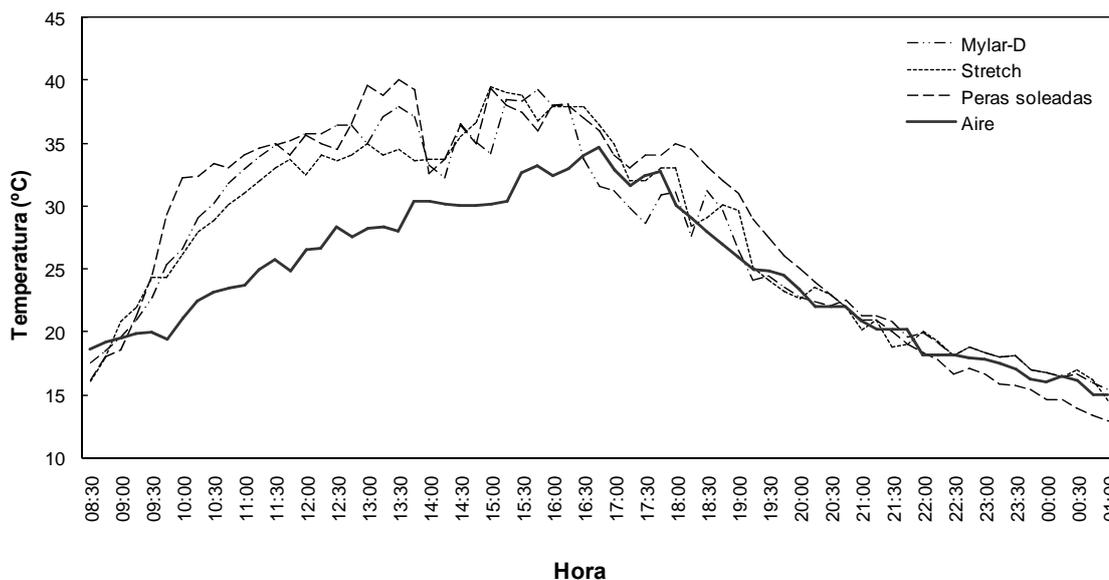


Figura 3.33. Evolución de la temperatura de la cara expuesta (CE) de frutos en los tratamientos Mylar-D, Stretch, Sol y temperatura promedio de aire al comienzo de la temporada de verano.

Al igual que lo observado en el tratamiento Sol del ensayo 2, la temperatura de la cara no expuesta (CNE) de los frutos de los tratamientos Mylar-D y Stretch siguió la marcha de la temperatura promedio de aire y presentó valores menores a esta durante las horas más cálidas del día (entre las 11:00 y las 20:00 hs) y valores superiores entre las 9:00 y las 11:00 hs (Figura 3.34).

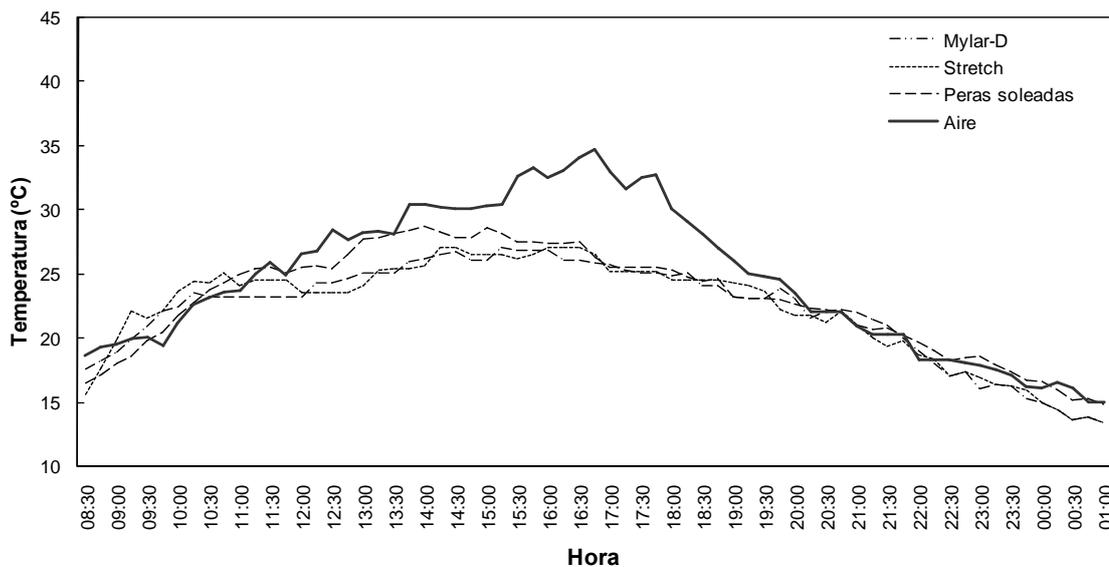


Figura 3.34. Evolución de la temperatura de la cara no expuesta (CNE) de frutos en los tratamientos Mylar-D, Stretch, Sol y temperatura promedio de aire al comienzo de la temporada de verano.

De la misma manera que lo registrado en el tratamiento Sol (Ensayo 2), en los frutos de los tratamientos Mylar-D y Stretch la cara expuesta (CE) de los frutos, presentó una temperatura superficial (TSF) mayor que la cara no expuesta (CNE), tanto en un día caluroso (Figura 3.35 A) como en uno con temperaturas moderadas (Figura 3.35 B). Cuando la temperatura media de aire fue de 32 °C, la CE de los frutos aumentó su temperatura en 11,7 °C promedio, con respecto a la CNE. Cuando la temperatura media de aire fue menor, la diferencia de TSF promedio entre ambas cara (CE y CNE) fue de 4,6 °C en ambos tratamientos. No se observaron diferencias entre los tratamientos Mylar-D y Stretch en ninguno de los casos (Figura 3.35).

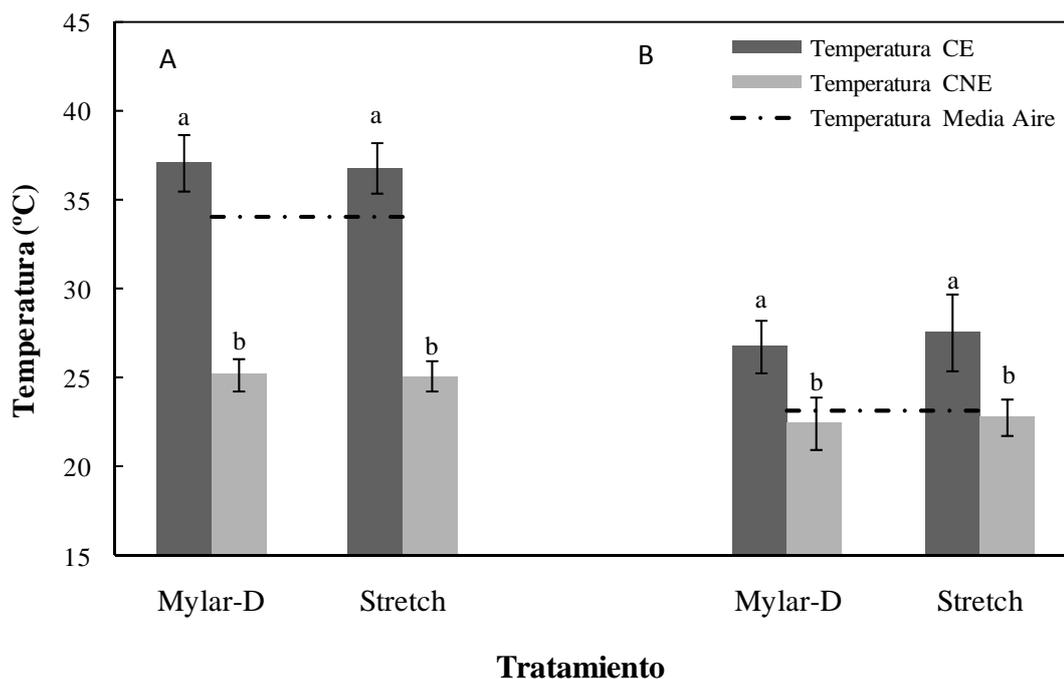


Figura 3.35. Temperatura superficial de la cara expuesta (CE) y no expuesta (CNE) de frutos en los tratamientos Mylar-D y Stretch. A) en un día con temperatura media de aire ≈ 32 °C y B) en un día con temperatura promedio de aire ≈ 23 °C. Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 30$). Se muestra el desvío estándar. Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

3.3.1.2 Contenido de sólidos solubles, acidez titulable y color

No se encontraron diferencias significativas en el contenido de sólidos solubles, en la acidez titulable ni en la luminosidad entre los tratamientos Mylar-D y Stretch. Las peras del tratamiento Stretch presentaron un menor valor de *hue*, indicando un color de la piel más rojizo que podría estar relacionado con la mayor incidencia de radiación UVB sobre los frutos (Figura 3.36).

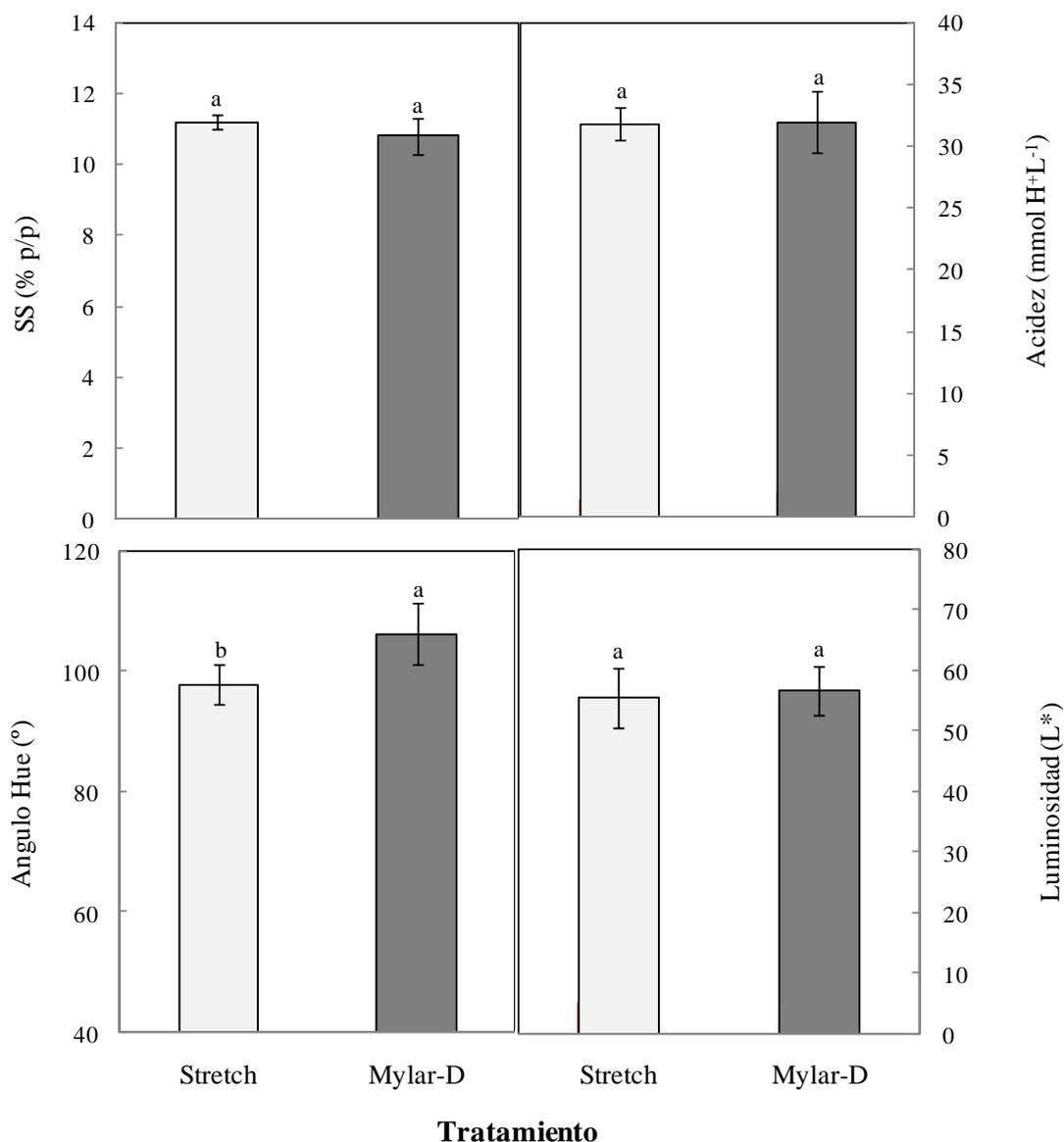


Figura 3.36. Sólidos solubles, acidez titulable y color: ángulo de matiz o hue y luminosidad de peras Bartlett que crecieron en dos condiciones diferentes de exposición a la radiación solar UVB en el campo: Mylar-D (menor nivel de UVB) y Stretch (mayor nivel de UVB) al momento de cosecha. Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 40$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

3.3.1.3. Firmeza

Los frutos del tratamiento Sol presentaron al momento de cosecha en su CE los valores más altos de firmeza (93,3 N), seguidos por los de los tratamientos Stretch y Mylar-D con valores de 90,4 N y 85,5 N respectivamente. Las peras del tratamiento sombra presentaron los menores valores de firmeza con un promedio de 80,2 N (Figura 3.37 A).

Luego de 13 d de almacenamiento a 20 °C se observó una importante caída en los valores de firmeza en todos los tratamientos. De todas maneras, los frutos del tratamiento Sol siguieron presentando una firmeza mayor (10,5 N) que los frutos del tratamiento Sombra (6 N), mientras que en los frutos de los tratamientos Stretch y Mylar-D se mantuvieron registrando valores intermedios (8,7 N y 8,2 N) (Figura 3.37 B).

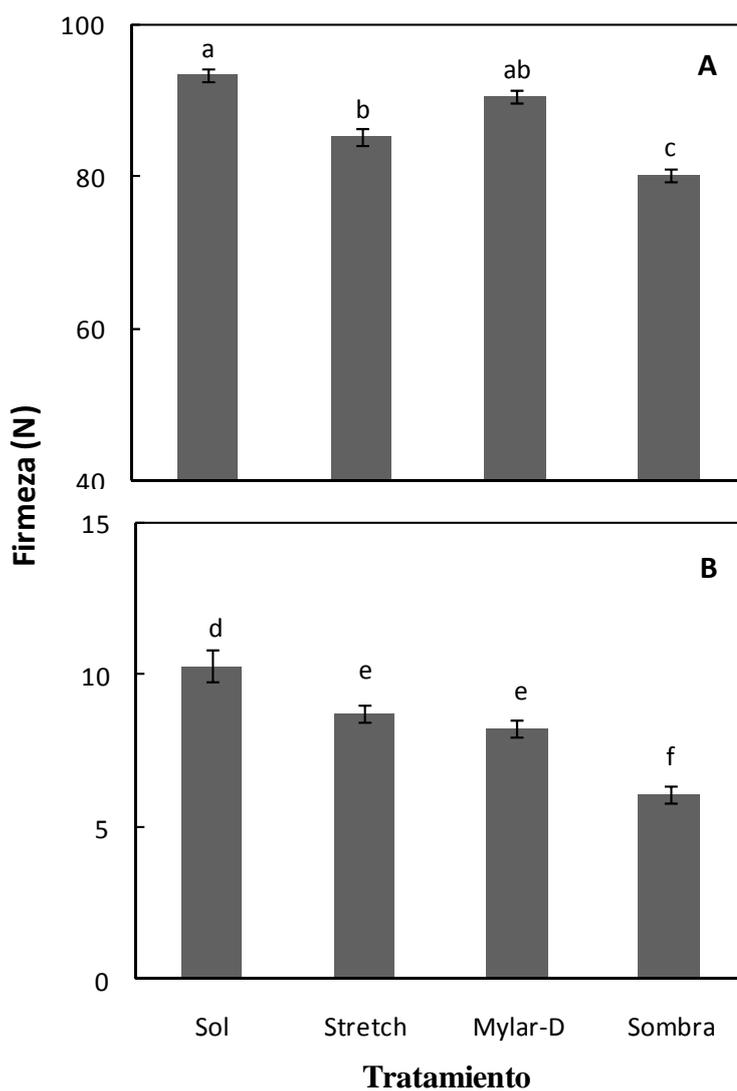


Figura 3.37. Firmeza (N) de la cara expuesta (CE) de peras Bartlett de los tratamientos Sol, Stretch, Mylar-D y Sombra. A) al momento de cosecha y B) luego de 13 d de almacenamiento a 20 °C (13 DDC). Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 30$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

La CNE de los frutos de todos los tratamientos presentó valores de firmeza levemente menores a los registrados en la CE. En los tratamientos Sol, Stretch y Mylar-D se registraron valores superiores (86,6; 86,7 y 89,6 N respectivamente) al de los frutos del tratamiento Sombra (80,9 N) (Figura 3.38 A).

Luego del almacenamiento durante 13 d a 20 °C se registró una fuerte caída de la firmeza en la CNE de las peras en todos los tratamientos, de la misma manera que en la CE de los frutos (Figura 3.38 B). Los tratamientos con mayores niveles de radiación, Sol, Stretch y Mylar-D, presentaron valores similares (8,73; 8,73 y 8,14 N) a los observados en la CE para los mismos tratamiento y superiores al tratamiento Sombra (6,18 N).

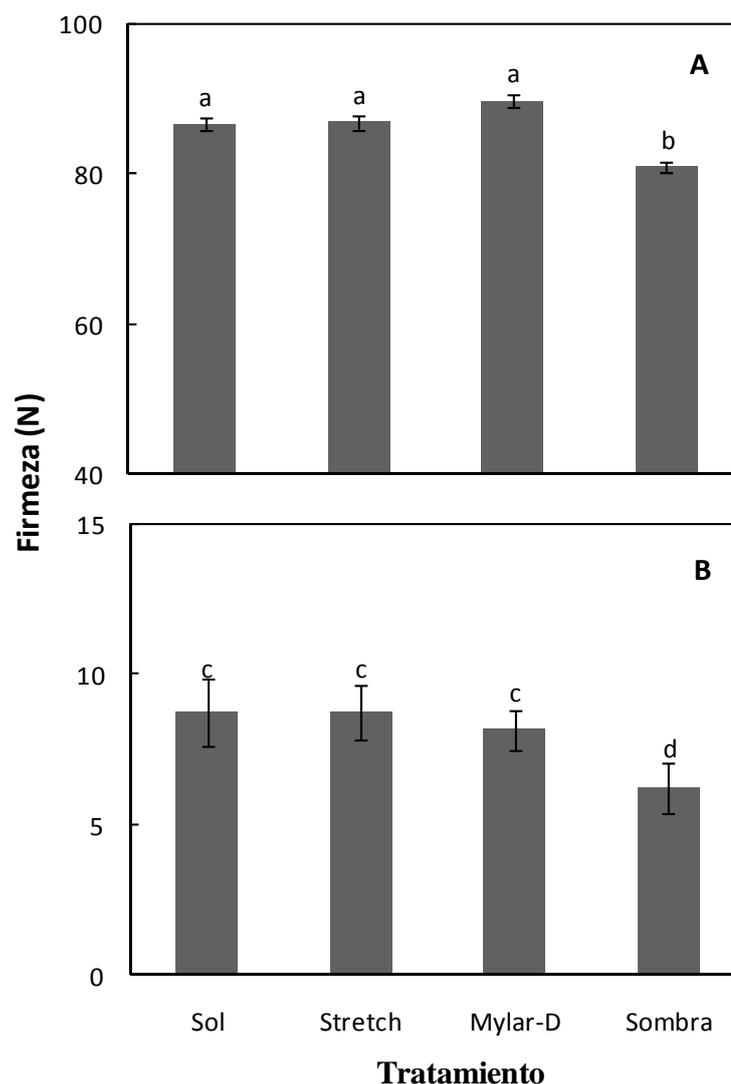


Figura 3.38. Firmeza (N) de la cara no expuesta (CNE) de peras Bartlett de los tratamientos Sol, Stretch, Mylar-D y Sombra. A) al momento de cosecha y B) luego de 13 d de almacenamiento a 20 °C (13 DDC). Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 30$). Letras distintas representan diferencias significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0,05$. Los valores representan las medias y las barras el desvío estándar.

El efecto de los tratamientos con ambos films sobre la firmeza se verificó en la zona expuesta, pero no así en la cara no expuesta de los frutos. En ningún caso se

observaron diferencias significativas de firmeza entre los frutos del tratamiento Stretch y Mylar-D, hecho que indicaría que la importancia relativa de la radiación UVB en el ablandamiento y metabolismo de pared celular de pera es limitado tanto en condiciones de alta temperatura de los frutos con alta intensidad de radiación (CE), como en situaciones en las que la intensidad de la radiación y temperaturas de los frutos son más bajas (CNE).

Los resultados sugieren que la disminución en los niveles de 20% de radiación en el rango visible provocada por los films Stretch y Mylar-D en condiciones de campo (Figura 3.32), podría estar involucrada en las diferencias encontradas en los valores de firmeza de las peras de los tratamientos con film, independientemente de su capacidad de absorción en la región UV.

3.4. Ensayo 4. Efecto de radiación visible y UVB sobre la eficacia de tratamientos poscosecha con el inhibidor de la acción del etileno 1-MCP.

3.4.1. Evaluación de índices de madurez de peras Bartlett tratadas con 1-MCP.

A fin de determinar si las condiciones de luz y temperatura de precosecha podían afectar la eficacia de tratamientos poscosecha con 1-MCP, se trataron con este producto, frutos de los tratamientos Sol, Stretch, Mylar-D y Sombra inmediatamente luego de la cosecha. Los frutos se almacenaron a 20 °C y se evaluaron a los 13 y 23 d la evolución del color superficial y de la firmeza.

Estudios previos han demostrado en forma repetida que el 1-MCP retrasa de manera importante la maduración de los principales cultivares de pera, incluyendo las de verano como Bartlett (Baritelle *et al.*, 2001; Trincherro *et al.*, 2004) y de invierno como d'Anjou (Baritelle *et al.*, 2001; Argenta *et al.*, 2003). El objetivo de nuestro estudio fue determinar el efecto de los factores precosecha (exposición solar, radiación UVB y PAR) sobre la eficacia de los tratamientos con 1-MCP. En tal sentido, se presentan solamente los resultados de los frutos tratados con 1-MCP. Los lotes de frutos que no fueron tratados con 1-MCP en poscosecha no lograron conservarse en condiciones, y presentaron a los 13 d valores de firmeza inferiores a los requeridos para su comercialización.

3.4.1.1. Color de la piel: Luminosidad, chroma y ángulo hue

Al momento de la cosecha, los valores de L*, C y h° fueron mayores en las peras del tratamiento Sombra que en el resto de los tratamientos (Cuadro 3.9). En las peras

sombreadas, resulta difícil suponer que existe un “lado expuesto” y otro “no expuesto”, ya que las peras se desarrollaron a la sombra. Sin embargo, se encontraron ciertas diferencias en los valores de L^* entre ambos lados, probablemente debido a diferencias en la radiación difusa recibida a través del canopeo.

El color rojo de las peras Bartlett puede cubrir desde un 5 hasta un 45% de la cara expuesta de los frutos. Al momento de la cosecha se observó una disminución de los valores de h° desde 118° en las peras sombreadas hasta menos de 70° en la cara expuesta de las peras del tratamiento Sol (Cuadro 3.9). Esta reducción indica un cambio de color de la piel desde el verde claro al rojizo debido a las condiciones de luz durante el período de crecimiento. Además, la reducción de los parámetros L^* y C^* observada en la cara expuesta de las peras del tratamiento Sol en comparación con las del tratamiento Sombra indicaría un color más oscuro. Situaciones intermedias se observaron en los tratamientos Stretch y Mylar-D (Cuadro 3.9). El sol es el que provoca una mayor opacidad en la piel de los frutos, por este motivo los valores de L^* y C^* fueron mayores cuanto menor fue la exposición del fruto a la radiación.

El tratamiento con 1-MCP provocó un claro retraso en la madurez de los frutos conservados 13 d a 20°C . Ello se vio reflejado principalmente en los altos valores de h° que indican una coloración verde. Se continuaron observando diferencias en todos los parámetros (L^* , C^* y h°) entre la cara expuesta (CE) y no expuesta (CNE) de los frutos para las peras de los tratamientos Sol, Stretch y Mylar-D, mientras que en las peras del tratamiento Sombra los valores no difirieron significativamente entre ambas caras. La reducción de los parámetros L^* y C^* observada en la CE de las peras del tratamiento Sol en comparación con las del Sombra indicaría un color más oscuro. Nuevamente se observaron situaciones intermedias en los tratamientos Stretch y Mylar-D (Cuadro 3.9).

Luego de 23 días de almacenamiento también se verificaron diferencias entre la CE y la CNE en los valores de L^* y h^o en las peras de los tratamientos Sol, Stretch y Mylar-D. Si bien la CNE de los frutos presentó tonalidades más verdes (97 a 101°), los valores de h^o resultaron menores a las evaluaciones previas indicando un mayor amarilleamiento de la piel de los frutos, propio de una madurez más avanzada (Cuadro 3.9).

Cuadro 3.9. Color de peras Bartlett tratados con 1-MCP bajo diferentes condiciones de radiación en precosecha. Los valores de L^* , C^* y h° corresponden a la cara expuesta (CE) y no expuesta (CNE) antes del almacenamiento y luego de 13 y 23 d a 20 °C. ^a

Tratamientos	L^*		C^*		h°		
	CE	CNE	CE	CNE	CE	CNE	
Cosecha	Sol	49,4 d	64,1 a	31,5 d	48,4 a	70,2 d	117,5 a
	Stretch	55,5 c	64,3 a	36,6 c	46,9 ab	97,9 c	117,4 a
	Mylar-D	56,7 c	63,6 a	37,7 c	46,6 ab	106,3 b	118,5 a
	Sombra	61,5 b	64,2 a	45,5 b	47,6 ab	118,4 a	118,5 a
13 DDC	Sol	53,5 c	69,2 a	35,3 b	50,9 a	72,9 d	112,1 a
	Stretch	58,2 b	67,6 a	38,3 b	50,7 a	90,8 b	113,5 a
	Mylar-D	58,1 b	68,4 a	38,9 b	49,8 a	86,0 c	112,1 a
	Sombra	67,1 a	68,4 a	51,0 a	50,8 a	113,3 a	113,1 a
23 DDC	Sol	63,6 c	77,1 a	46,1 c	52,8 b	72,8 c	101,6 a
	Stretch	69,7 b	77,1 a	52,3 b	54,5 ab	91,8 b	100,2 a
	Mylar-D	69,6 b	77,6 a	51,5 b	54,0 ab	88,7 b	99,6 a
	Sombra	78,5 a	78,8 a	56,5 a	56,1 a	97,6 a	97,5 a

^a Los valores representan la media \pm DS (n = 40). Diferentes letras dentro de cada fracción (fila) indican diferencias significativas entre los distintos estadios en un test de Tukey con un nivel de significancias de $P < 0,05$.

Las diferencias observadas en el color de la piel al momento de cosecha entre los tratamientos y entre la CE y la CNE, se mantuvieron durante los períodos de almacenamiento del presente ensayo (13 y 23 d).

3.4.1.2. Firmeza de las caras expuesta y no expuesta

Luego de 13 d de conservación a 20 °C, la firmeza de los frutos del tratamiento Sol tratados con 1-MCP fue mayor al del resto de los tratamientos (Figura 3.39). Se observaron diferencias entre la CE y CNE de los frutos, siendo la CE la que presentó los valores de firmeza más altos. Las peras del tratamiento Sombra presentaron la menor firmeza, mientras que las de los tratamientos Stretch y Mylar-D mostraron valores intermedios. En ninguno de estos últimos tres tratamientos se observaron diferencias significativas entre las CE y CNE, a pesar de que los promedios de firmeza de las CNE fueron inferiores (Figura 3.39).

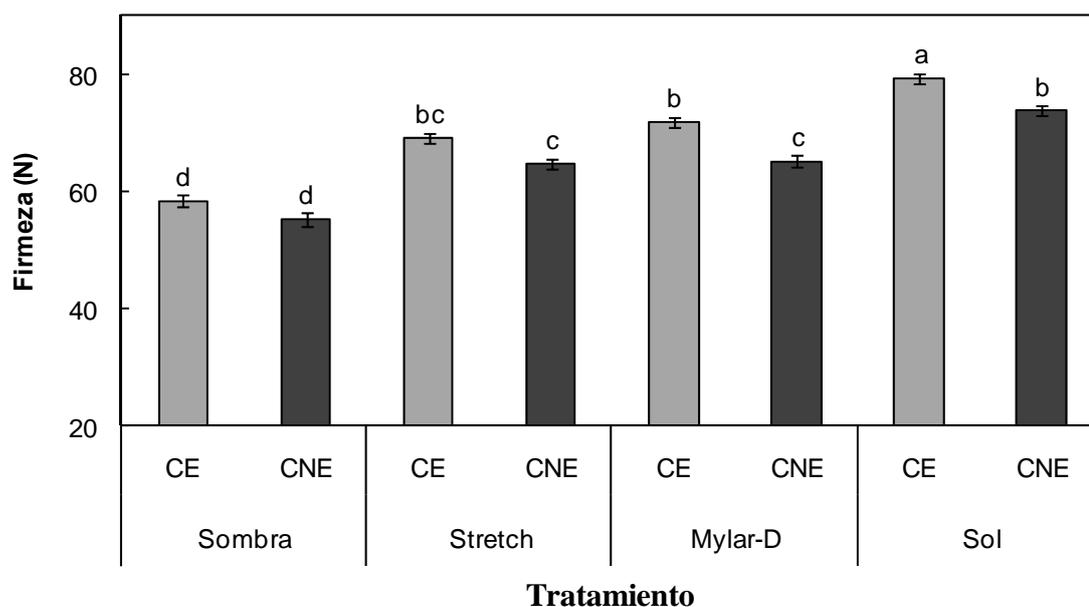


Figura 3.39. Firmeza de la cara expuesta (CE) y no expuesta (CNE) de peras Bartlett tratadas con 1-MCP bajo diferentes condiciones de radiación en precosecha, luego de 13 d de almacenamiento a 20 °C. Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 30$). Valores seguidos por distinta letra presentan diferencias estadísticamente significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de ($P < 0,05$).

En la evaluación realizada a los 23 días después de la cosecha la respuesta al 1-MCP fue significativamente diferente entre los tratamientos de luz precosecha ($P < 0,05$): las peras soleadas tratadas fueron 415 % más firmes (36 N) que las peras sombreadas (7 N), y las peras de las películas Stretch y Mylar-D, 140 % más firmes (17 N). Las peras del tratamiento Sombra presentaron valores de firmeza por debajo del mínimo aceptable para el consumo (9-18 N) en ambos casos (Figura 3.40).

El tratamiento Sol fue el único en el que se encontraron diferencias significativas entre los valores de firmeza de las CE y CNE, siempre con firmezas superiores en la CE de los frutos (Figura 3.40).

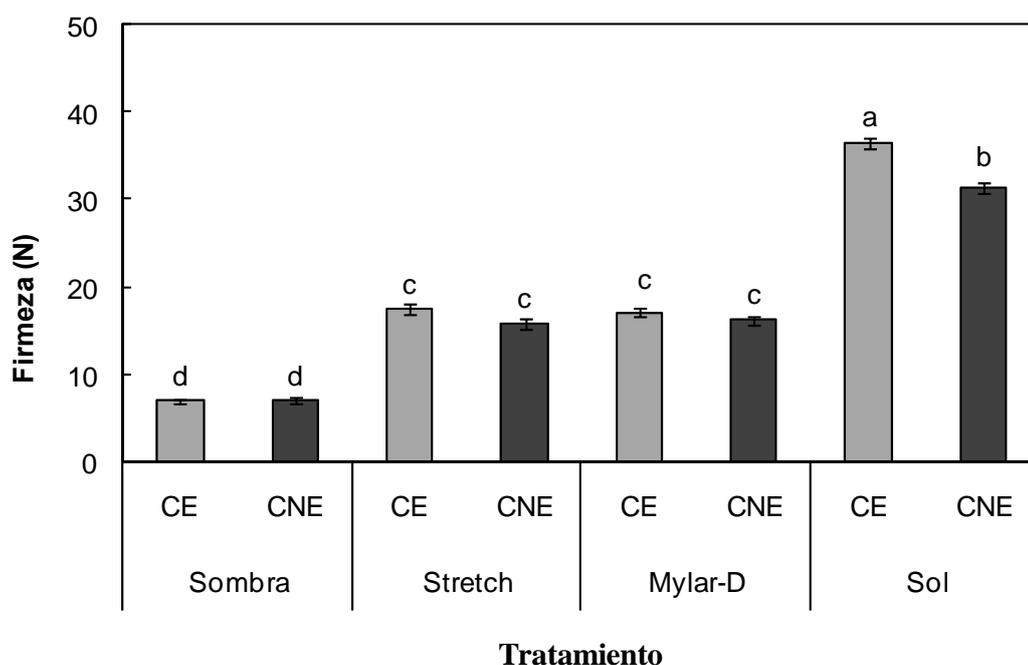


Figura 3.40. Firmeza de la cara expuesta (CE) y no expuesta (CNE) de peras Bartlett tratadas con 1-MCP bajo diferentes condiciones de radiación en precosecha, luego de 23 d de almacenamiento a 20 °C. Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n = 30$). Valores seguidos por distinta letra presentan diferencias estadísticamente significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de ($P < 0,05$).

En el presente experimento se observó que la diferente exposición de los frutos a la luz/temperatura en precosecha es una fuente de variabilidad que afecta la eficacia de los tratamientos poscosecha con 1-MCP. En pera Bartlett esto se visualizó a partir de los cambios en los índices de madurez entre las zonas expuestas y no expuestas de un mismo fruto y entre los frutos de los tratamientos Sombra, Sol y los cubiertos con los films (Mylar-D y Stretch).

La radiación fotosintéticamente activa junto con temperaturas más elevadas, serían los factores precosecha más relevantes, responsables de los cambios observados (frutos más firmes a cosecha y luego del almacenamiento a 20 °C y mejor respuesta a tratamientos con 1-MCP), mientras que el efecto de la radiación UVB no sería significativo.

3.4.2. Metabolismo de pared celular tratadas con 1-MCP

Por último, se decidió realizar una caracterización más detallada de los cambios en la pared celular de frutos tratados con 1-MCP y almacenados por 13 ó 23 d a 20 °C. Dado que las diferencias más marcadas en los índices de madurez se visualizaron en frutos provenientes de los tratamientos Sol y Sombra, se utilizaron peras de estos tratamientos para los estudios de pared celular.

3.4.2.1. Solubilización, composición de azúcares neutros y despolimerización de fracciones pécticas

El contenido de ácidos urónicos solubles en agua a los 13 DDC en frutos tratados con 1-MCP fue menor en el tratamiento Sol que en el tratamiento Sombra,

contrariamente, la proporción de pectinas solubles en CDTA y Na_2CO_3 fue mayor en las peras del tratamiento Sol que en las de la Sombra (Cuadro 3.10).

Luego de 23 DDC, la proporción de ácidos urónicos solubles en agua aumentó al mismo tiempo que se redujo el contenido de ácidos urónicos en la fracciones CDTA y Na_2CO_3 en el tratamiento Sol. En las peras del tratamiento Sombra se observó un aumento en el contenido de ácidos urónicos de la fracción soluble en CDTA de manera conjunta con una reducción en la fracción Na_2CO_3 , sin observarse modificaciones en la proporción de urónicos solubles en agua (Cuadro 3.10).

Si bien al final del almacenamiento los niveles de AU solubles en agua fueron similares para ambos tratamientos, las peras expuestas al Sol mantuvieron una proporción mayor de pectinas asociadas fuertemente a la pared y una menor cantidad de pectinas solubles en CDTA que las provenientes de frutos del tratamiento Sombra. Este hecho permite inferir que el tratamiento poscosecha con 1-MCP resultó más eficaz en los frutos del tratamiento Sol retrasando claramente la solubilización de pectinas respecto a lo ocurrido en frutos sombreados, donde la acción del 1-MCP fue menor.

Cuadro 3.10. Contenido de ácidos urónicos (g por 100 g fracción) de pared celular de peras Bartlett que crecieron en diferentes condiciones de luz (Sol y Sombra), tratadas con 1-MCP y luego de 13 y 23 d de conservación a 20 °C^a.

	Sol		Sombra	
	13 DDC	23 DDC	13 DDC	23 DDC
F-Agua	16,3 ± 0,8 b	32,8 ± 0,9 a	32,3 ± 0,9 a	31,2 ± 1,2 a
F-CDTA	41,6 ± 1,4 b	36,1 ± 1,4 c	30,5 ± 1,3 d	50,6 ± 1,7 a
F-Na ₂ CO ₃	34,9 ± 0,7 a	26,1 ± 0,9 b	27,3 ± 0,8 b	7,6 ± 0,8 c
F-KOH 1M	5,3±0,9 a	3,6±0,7 b	4,1±0,1 b	6,9±0,1 a
F-KOH 4M	1,9±0,5 b	1,4±0,4 b	5,7±0,5 a	3,7±0,3 a

^a Los valores representan en promedio ± DS (n=3). Valores seguidos por distinta letra dentro de cada fracción, presentan diferencias estadísticamente significativas en un test de Tukey con un nivel de significancia de (P < 0,05).

Las pectinas débilmente- (F-Agua), iónicamente- (F-CDTA) y fuertemente- (F-Na₂CO₃) unidas resultaron ser especialmente ricas en Ara y en menor medida en otros azúcares tales como Gal, Glc, Xil y Ram (Cuadro 3.11). Luego de 13 DDC a 20 °C, las peras del tratamiento Sol, presentaron una menor proporción de Ara en la F-Agua (20,0%) que los observados en las peras del tratamiento Sombra (40,6 %). Durante el proceso de maduración, luego de 23 d de almacenamiento a 20 °C, se observó un aumento en la solubilización de Ara en la F-agua en ambos tratamientos (Cuadro 3.11).

Cuadro 3.11. Composición de azúcares neutros (mol/100 moles) de las fracciones pécticas de peras Bartlett bajo diferentes condiciones de luz tratadas con 1-MCP y luego de 13 y 23 d de almacenamiento a 20 °C.

	Tratamiento	Ram	Fuc	Ara	Xil	Man	Gal	Glc
F-Agua	Sol 13d	4,8	2,9	20,0	12,4	8,2	27,7	24,0
	Sombra 13d	3,5	2,2	40,6	9,7	6,4	21,2	16,5
	Sol 23d	3,9	1,0	61,9	9,2	2,8	17,4	3,9
	Sombra 23d	7,8	3,0	52,3	9,0	-	13,6	14,1
F-CDTA	Sol 13d	5,6	1,7	65,5	4,8	-	14,7	7,7
	Sombra 13d	5,9	1,1	61,6	4,1	3,2	14,6	9,4
	Sol 23d	5,3	1,6	57,7	8,0	2,7	12,7	12,0
	Sombra 23d	6,0	1,1	67,5	6,8	1,5	10,6	6,5
F-Na ₂ CO ₃	Sol 13d	2,5	0,3	76,8	1,4	-	17,8	1,1
	Sombra 13d	5,4	0,5	77,5	1,5	-	13,0	2,1
	Sol 23d	5,8	0,6	78,9	2,5	-	12,2	-
	Sombra 23d	5,5	0,4	81,0	2,7	-	10,4	-

A pesar de las diferencias observadas en la solubilización de AU, es importante destacar que en lo que respecta a la solubilidad de los azúcares neutros en las fracciones pécticas no se visualizaron importantes diferencias entre los frutos tratados con 1-MCP provenientes de los tratamientos Sol y Sombra (Cuadro 3.12). Esto sugiere que las modificaciones que ocurren en las pectinas durante la poscosecha se asocian más con cambios en las cadenas principales de RG-I u homogalacturonano (HG) que con las cadenas laterales, a diferencia de lo que ocurriría durante el desarrollo ontogénico (Capítulo 2).

Cuadro 3.12. *Extractabilidad de azúcares neutros (g por 100 g fracción) de la pared celular de peras Bartlett en agua, CDTA, Na₂CO₃, KOH 1M y 4M, para los tratamientos con diferente grado de exposición a la luz solar (Sol y Sombra), tratados con 1-MCP y luego de 13 y 23 días de almacenamiento a 20 °C (13 DDC y 23 DDC)^{ab}.*

	Sol		Sombra	
	13 DDC	23 DDC	13 DDC	23 DDC
F-Agua	12,2 ± 1,9 a	7,9 ± 0,5 b	14,8 ± 0,1 a	8,2 ± 0,8 b
F-CDTA	9,9 ± 0,5 b	0,1 ± 0,1 c	12,5 ± 0,7 a	10,3 ± 0,5 b
F-Na ₂ CO ₃	3,2 ± 0,4 b	15,6 ± 0,9 a	2,4 ± 0,5 b	18,1 ± 1,3 a

^a Obtenidas luego de restar el contenido de ácidos urónicos al total de carbohidratos (ver materiales y métodos). ^b Los valores representan la media ± DS (n = 3). Diferentes letras dentro de cada fracción (fila) indican diferencias significativas entre los distintos estadios en un test de Tukey con un nivel de significancias de $P > 0,05$.

A los 13 y 23 d de almacenamiento no se observaron grandes diferencias en el tamaño de las pectinas solubles en agua entre las peras de los tratamientos Sol y Sombra con tratamiento de 1-MCP, que mostraron un pico marcado correspondiente a alto peso molecular conjuntamente con una zona de poliurónidos de bajo peso molecular, independientemente de las condiciones de luz en precosecha (Figura 3.41).

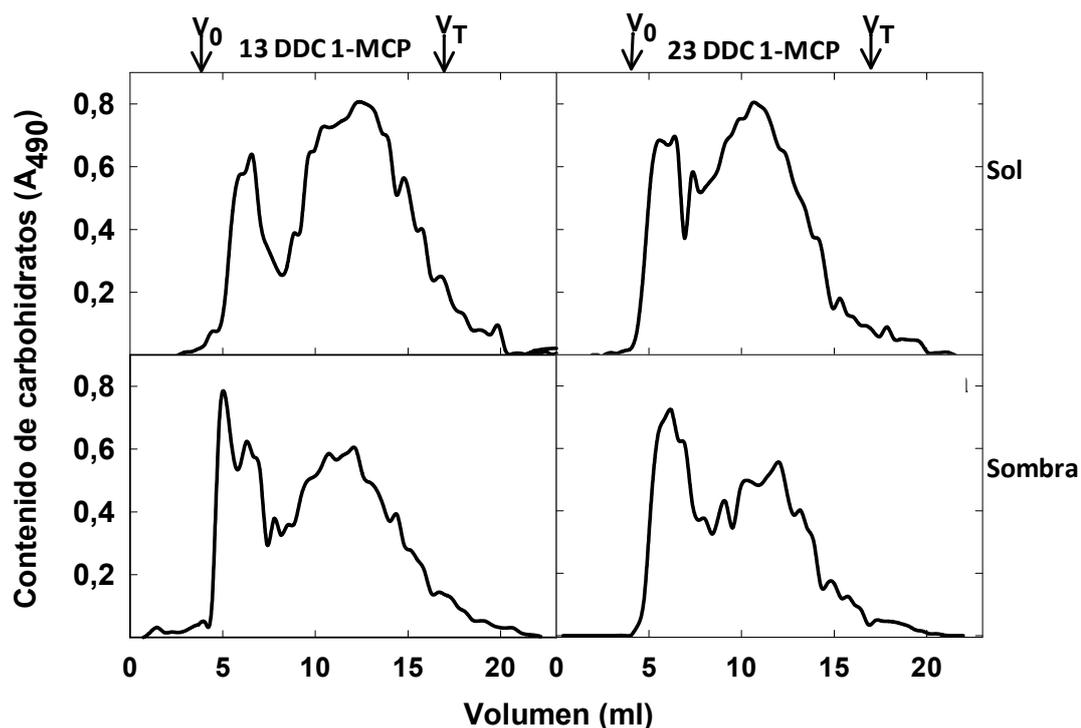


Figura 3.41. Perfiles de cromatografía de exclusión molecular (SEC) de la fracción soluble en Agua de peras Bartlett tratadas con 1-MCP de los tratamientos: Sol y Sombra luego de 13 DDC y 23 DDC almacenadas a 20 °C. Fraccionadas con columna de Sepharose CL-6B. V_0 , volumen eluido; V_T , volumen total.

Los poliurónidos solubles en CDTA de los tratamientos Sol y Sombra, mostraron una leve despolimerización durante la conservación, sin observarse diferencias entre tratamientos (Figura 3.42), mientras que en las pectinas fuertemente unidas (F- Na_2CO_3) no se observaron cambios durante la conservación ni entre tratamientos (Figura 3.43).

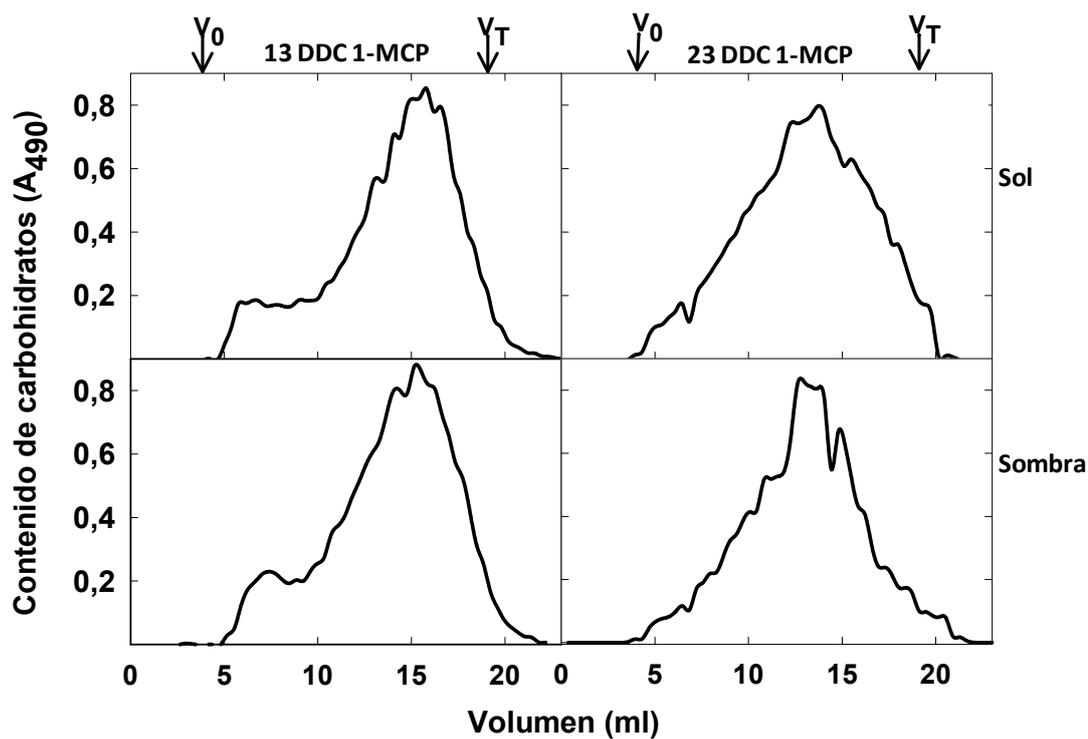


Figura 3.42. Perfiles de cromatografía de exclusión molecular (SEC) de la fracción soluble en CDTA de peras Bartlett tratadas con 1-MCP de los tratamientos: Sol y Sombra luego de 13 DDC y 23 DDC almacenadas a 20 °C. Fraccionadas con columna de Sepharose CL-2B. V_0 , volumen muerto; V_T , volumen total.

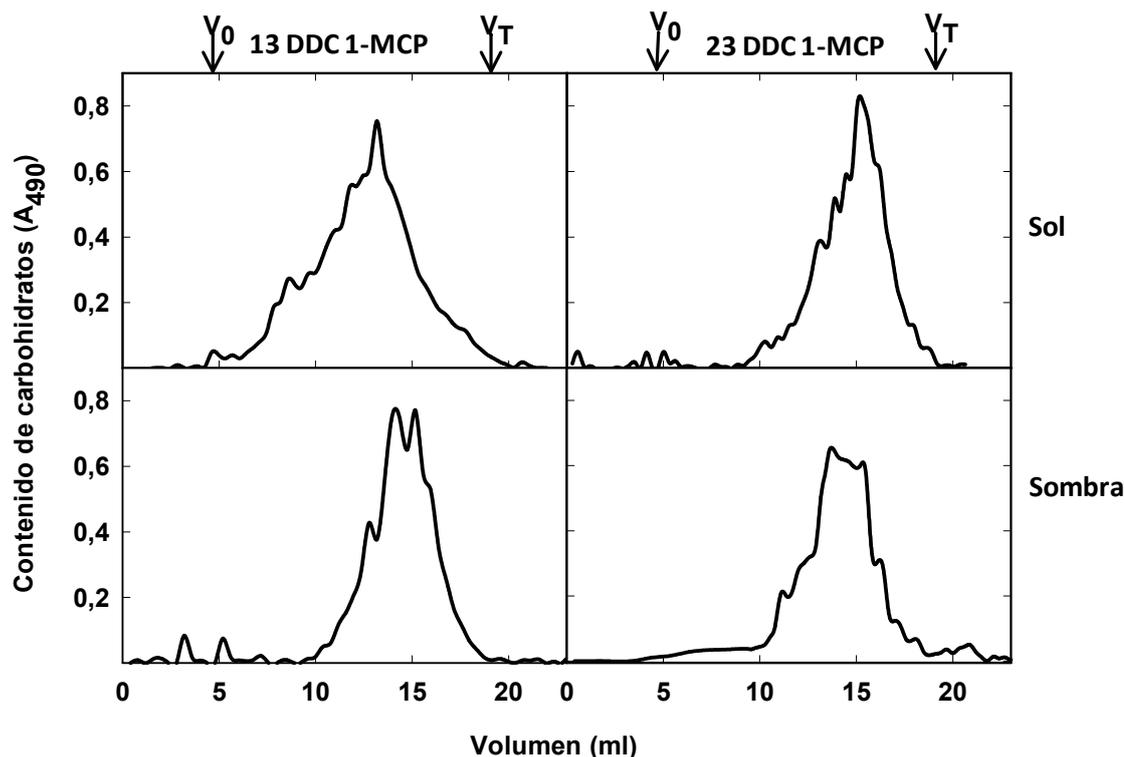


Figura 3.43. Perfiles de cromatografía de exclusión molecular (SEC) de la fracción soluble en Na_2CO_3 de peras Bartlett tratadas con 1-MCP de los tratamientos: Sol y Sombra luego de 13 DDC y 23 DDC almacenadas a 20°C . Fraccionadas con columna de Sepharose CL-2B. V_0 , volumen muerto; V_T , volumen total.

3.4.2.2. Solubilización, composición de azúcares neutros y despolimerización de los glicanos de entrecruzamiento

Los niveles de AN en la fracción de glicanos de entrecruzamiento más débilmente asociados (solubilizados por KOH 1 M) no evidenciaron cambios durante el almacenamiento ni entre los tratamientos estudiados (Sol y Sombra). En cambio, la fracción rica en xiloglucanos mostró al final del almacenamiento menores niveles de AN en los frutos provenientes de zonas sombreadas (Cuadro 3.13).

Cuadro 3.13. *Extractabilidad de azúcares neutros (g por 100 g fracción) de la pared celular de peras Bartlett en agua, KOH 1M y 4M, para los tratamientos con diferente grado de exposición a la luz solar (Sol y Sombra), tratados con 1-MCP y luego de 13 y 23 d de almacenamiento a 20 °C (13 DDC y 23 DDC)^{a,b}.*

	Sol		Sombra	
	13 DDC	23 DDC	13 DDC	23 DDC
F-KOH 1M	33,0 ± 1,1 a	30,4 ± 0,9 a	31,5 ± 0,7 a	27,4 ± 0,4 b
F-KOH 4M	41,6 ± 0,9 ab	46,0 ± 0,3 a	38,8 ± 1,1 b	36,0 ± 0,6 b

^a Obtenidas luego de restar el contenido de ácidos urónicos al total de carbohidratos (ver materiales y métodos). ^b Los valores representan la media ± DS (n = 3). Diferentes letras dentro de cada fracción (fila) indican diferencias significativas entre los distintos estadios en un test de Tukey con un nivel de significancias de $P > 0,05$.

Los azúcares neutros en la fracción soluble en KOH 1 M mostraron cambios irregulares tanto entre tratamientos como durante el almacenamiento. En el caso de la fracción soluble en KOH 4 M se visualizó una clara disminución en la proporción de Ara con un incremento relativo en los niveles de Xil aunque sin diferencias entre los tratamientos (Cuadro 3.14).

Cuadro 3.14. Composición de azúcares neutros (mol/100 moles) de la matriz de glicanos de peras Bartlett bajo diferentes condiciones de luz, tratadas con 1-MCP y luego de 13 y 23 d de almacenamiento a 20 °C.

	Tratamiento	Ram	Fuc	Ara	Xil	Man	Gal	Glc
F-KOH 1M	Sol 13d	2,7	0,7	52,0	12,5	-	9,6	22,6
	Sombra 13d	1,2	2,0	14,8	47,6	6,6	7,4	20,4
	Sol 23d	3,2	1,9	37,4	24,4	3,7	12,6	16,8
	Sombra 23d	3,3	1,4	50,4	22,6	2,1	9,0	11,2
F-KOH 4M	Sol 13d	1,2	5,0	15,0	26,9	5,3	13,7	32,9
	Sombra 13d	2,9	1,9	44,3	24,9	4,6	14,0	7,3
	Sol 23d	1,2	4,4	8,8	36,0	6,0	12,2	32,4
	Sombra 23d	3,9	1,1	8,3	45,2	7,3	9,8	24,4

A los 13 días de almacenamiento los frutos tratados con 1-MCP de la F-KOH 1 M mostraron una matriz de glicanos con un pico marcado correspondiente a alto peso molecular conjuntamente con una zona de glicanos de bajo peso molecular, independientemente de las condiciones de luz en precosecha y del el estado de madurez (Figura 3.44).

Luego de 23 d de almacenamiento, el proceso de despolimerización progresó en los frutos de ambos tratamientos, pero la fruta del tratamiento Sol mostró una mayor proporción de la matriz de glicanos en la zona de alto peso molecular que la del tratamiento Sombra (Figura 3.44).

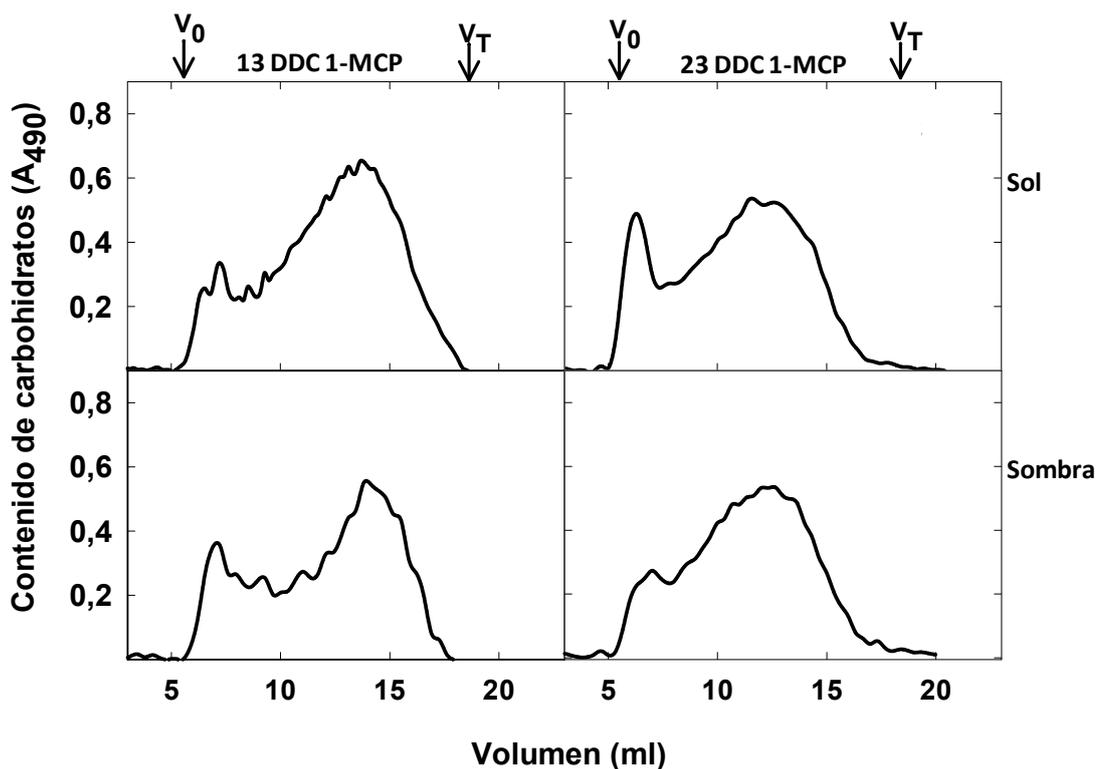


Figura 3.44. Perfiles de cromatografía de exclusión molecular (SEC) de la fracción soluble en KOH 1M de peras Bartlett tratadas con 1-MCP de los tratamientos: Sol y Sombra luego de 13 DDC y 23 DDC almacenadas a 20 °C. Fraccionadas con columna de Sepharose CL-6B. V_0 , volumen eluido; V_T , volumen total.

A los 13 d de almacenamiento los frutos tratados con 1-MCP de la F-KOH 4 M del tratamiento Sombra, mostraron una matriz de glicanos con un pico marcado correspondiente a alto peso molecular conjuntamente con una zona de glicanos de peso molecular medio (Figura 3.45). Luego de 23 d de conservación se observó en las peras del tratamiento Sol una mayor proporción de glicanos de entrecruzamiento de mayor peso molecular que la fruta del tratamiento Sombra (Figura 3.45).

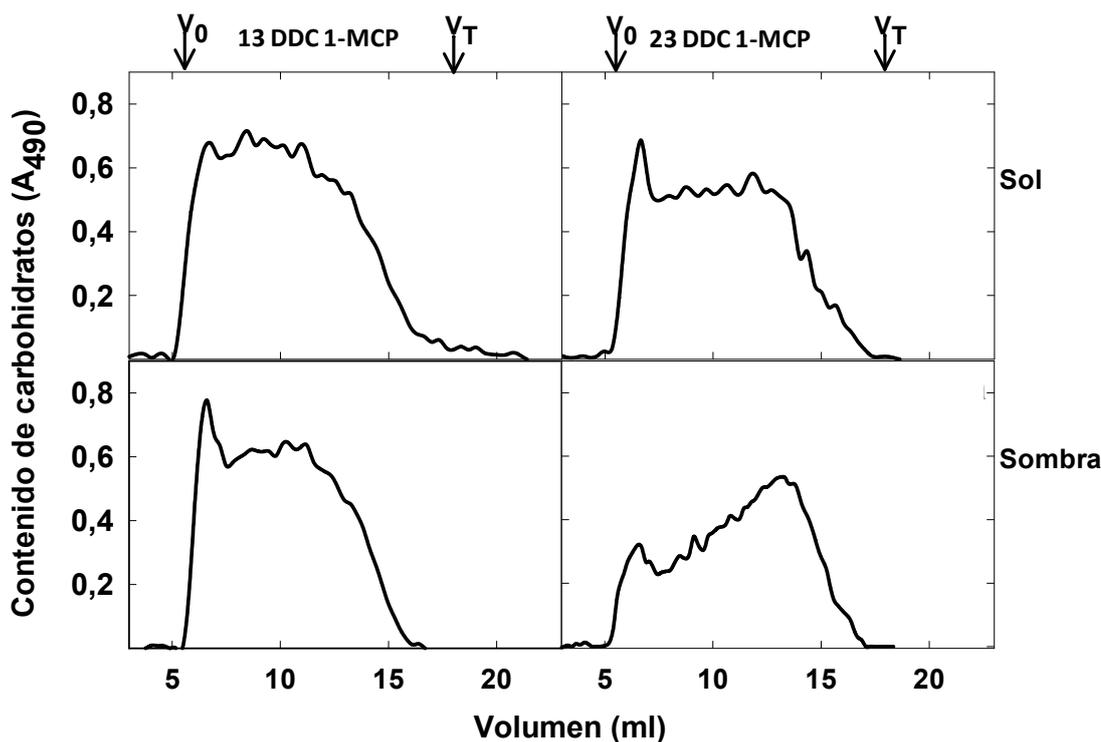


Figura 3.45. Perfiles de cromatografía de exclusión molecular (SEC) de la fracción soluble en KOH 4M de peras Bartlett tratadas con 1-MCP de los tratamientos: Sol y Sombra luego de 13 DDC y 23 DDC almacenadas a 20 °C. Fraccionadas con columna de Sepharose CL-6B. V_0 , volumen eluido; V_T , volumen total.

Los resultados del presente ensayo permiten concluir que las condiciones de cultivo poseen una importante influencia sobre la eficacia de los tratamientos con 1-MCP. Las mejores respuestas se observan en los frutos provenientes de posiciones soleadas dentro de la copa del árbol. En contraposición los frutos ubicados en zonas sombreadas mostraron la menor retención de firmeza. Con respecto a los frutos provenientes de los tratamientos con películas los resultados sugieren que los efectos de la radiación UVB en la firmeza no son importantes. Por el contrario, más allá de la influencia de la temperatura que ya ha sido descrita en numerosas oportunidades, se visualiza que la reducción de la radiación en el rango del visible posee un efecto negativo sobre la firmeza.

Capítulo 4. DISCUSIÓN

4.1. El ablandamiento y cambio de color de peras Bartlett en el árbol proceden “in planta” con una elevada producción de etileno, aunque ocurren más lentamente que en el caso de frutos cosechados y madurados “ex planta”.

La temperatura del aire, es uno de los principales factores que afectan el crecimiento y desarrollo de las peras Bartlett (Rodríguez y Sánchez, 2011). En temporadas en la que la temperatura media de aire no es óptima, se llega al momento de cosecha con frutos que si bien presentan madurez fisiológica, no alcanzan el tamaño mínimo requerido. Esto provoca un retraso de la cosecha y del avance del proceso de madurez en planta, recolectándose los frutos con un calibre adecuado, pero con un menor potencial de conservación (Pro Rio Negro, 2010). A esto se suma que la cosecha comercial de esta variedad se realiza por pasadas que están determinadas no solamente por los tamaños mínimos comerciales sino por la disponibilidad de contenedores y por la capacidad de procesamiento y almacenamiento de los galpones de empaque. De este modo, el período de recolección se extiende por más de 3 a 4 semanas.

Si bien las peras de cosecha temprana suelen evolucionar lentamente, cuando son maduradas en forma apropiada se obtienen frutos con excelente calidad organoléptica. Se han desarrollado numerosos protocolos para inducir la maduración de las diferentes variedades de pera, que incluyen tratamiento de almacenamiento a baja temperatura o la exposición a atmósferas enriquecidas en etileno (Kondo y Takano, 2000; Villalobos-Acuña y Mitcham, 2008). Contrariamente, se ha descrito que el retraso excesivo de la cosecha puede resultar en cambios indeseables desde el punto de vista de la calidad (Murayama *et al.*, 1998). A partir de estas observaciones en un

primer ensayo se decidió caracterizar la maduración de peras Bartlett en el árbol durante todo su desarrollo. Se analizaron con más detenimiento los estadios desde la llegada a la madurez fisiológica, que fueron iniciados en una etapa de maduración temprana (MT; 119 DPA) pasando por un estado de madurez intermedia (MM; 147 DPA) hasta un período de sobre-madurez (SM; 161 DPA). La maduración de peras cosechadas en estados tempranos suele ser lenta y esto más allá de deberse simplemente a un menor grado de maduración inicial, se asocia con una menor capacidad de producción de etileno (HersHKovitz *et al.*, 2009). La exposición de las peras a temperaturas más bajas, ya sea que estén unidas o separadas de la planta, acelera la producción de etileno asociada al pico climatérico (Wang *et al.*, 1971). Agar *et al.*, (1999) determinaron que peras Bartlett provenientes de zonas de cultivo con temperaturas más bajas antes de la cosecha y/o de cosecha más tardía, presentaron tasas de producción de etileno más altas durante la maduración, lo que se tradujo en una diferencia en su habilidad para madurar. Gomila *et al.* (2011) determinaron que el pico de etileno aumentó conforme avanzó la madurez de los frutos en la planta. Asimismo, se ha informado que el almacenamiento poscosecha a bajas temperaturas por períodos variables (14-21 d) y los tratamientos con etileno pueden activar enzimas asociadas con su propia biosíntesis incrementando la tasa de maduración (Gerasopoulos y Richardson 1997; Agar *et al.*, 2000; Fonseca *et al.*, 2005).

En el presente trabajo sobre los frutos madurados en planta el color de la piel y la firmeza evolucionaron mostrando un cambio hacia el amarillo y una reducción progresiva de la resistencia a la penetración (Figuras 3.2, 3.3 y 3.4, páginas 61, 62 y 63). Al llegar al último estadio de madurez (SM) la firmeza fue de 45 N, lo que representa un valor aún superior al requerido para consumo. Las peras cosechadas en la primera fecha y mantenidas a temperatura ambiente para esta fecha se encontraban fuera de

madurez comercial (datos no mostrados). Esto indica que más allá de la diferente habilidad poscosecha de las peras para madurar en función del momento en el que se separan de la planta madre, la permanencia en el árbol produce una maduración más lenta (Murayama *et al.*, 1998, 2006). Al igual que para explicar las dificultades que suelen presentar las peras europeas para completar su madurez una vez cosechadas, se ha sugerido que el retraso observado en frutos mantenidos en planta respecto a los cosechados podría deberse a una baja capacidad para sintetizar etileno (Mitchell, 1990). Algunos resultados experimentales apoyan esta posibilidad, observando que la producción de etileno durante la permanencia de los frutos asociados al árbol fue muy baja Hiwasa *et al.* (2003) y Murayama *et al.* (1998; 2006). Por su parte, el anillado del pedúnculo por encima de la zona de abscisión permitió recuperar parcialmente la producción de etileno y la maduración normal (Murayama *et al.*, 2006). Si bien esto podría llevar a sugerir que la maduración lenta de los frutos en el árbol resulta de la baja producción de etileno, la evidencia es sólo correlativa y no permite descartar otras posibilidades. En el presente trabajo, la producción de etileno de los frutos madurados en planta (Figura 3.1, página 60) fue similar a la informada durante el climaterio de peras *ex planta* y con un período de conservación en frío (Calvo, 2008) y muy superior a la descrita en estudios previos (Murayama *et al.*, 1998; 2006; Hiwasa *et al.*, 2003).

Si bien resultarían de interés algunos estudios complementarios que intenten identificar los factores que contribuyen a la reducción en la velocidad de maduración de peras mantenidas en el árbol, los resultados indican que la baja producción de etileno no es necesaria para este retraso.

4.2. La maduración de los frutos de pera Bartlett en el árbol hasta etapas avanzadas provoca una reducción del contenido de jugo libre y de la percepción de la jugosidad al momento de consumo.

La madurez al momento de la cosecha es de gran importancia, ya que determina la forma en que los frutos deberán ser manipulados, transportados y comercializados, así como su potencial de conservación y almacenamiento (Kader, 1999). Los frutos climatéricos como las peras, pueden recolectarse luego de que alcancen su madurez fisiológica, aún cuando todavía están inmaduros desde el punto de vista organoléptico y obtener posteriormente las cualidades adecuadas (Wills *et al.*, 1981). La cosecha de frutos con un estado de madurez óptimo permite que estos lleguen al consumidor con las mejores condiciones de textura y sabor posibles para el cultivar (Herrero y Guardía, 1992). Para determinar el momento de cosecha se emplean diferentes índices de madurez; a su vez, el relevamiento de las características sensoriales de los frutos (si bien no es un análisis de rutina), ha resultado ser una herramienta fundamental para determinar los cambios en la calidad organoléptica de peras durante la maduración luego de un período de conservación en frío (Raffo *et al.*, 2011). Las peras Bartlett presentan una pulpa firme y ácida en un inicio, pero a la madurez se caracteriza por una textura blanda y mantecosa, sabor dulce y muy aromática. La definición de una textura mantecosa, término que se utiliza específicamente para caracterizar a las peras, es considerada por los paneles de degustación en función de varios atributos de textura a saber: la granulosidad o rugosidad, la jugosidad y las sensaciones de fusión o facilidad de disolución.

Los frutos del último estadio de madurez (SM, 161 DPA) más allá de mostrar una elevada producción de etileno, cambios en el color de la piel y una disminución en

la firmeza, no desarrollaron la textura jugosa y mantecosa, característica de la variedad (Figura 3.6, página 65). Crisosto y Labavitch (2002), demostraron que la determinación de jugo libre en frutos es una medición cuantitativa precisa y sensible que permite detectar pequeños cambios en la harinosidad en duraznos con daño por frío. En el caso de las peras también se observó que el retraso en la cosecha resultó en una reducción el contenido de jugo libre respecto de frutos cosechados en estadios previos y madurados fuera de planta (Figura 3.5, página 64). A los 147 DPA si bien la cantidad de jugo libre medida fue similar al de la fecha previa, la percepción de jugosidad por parte del panel fue algo menor (Figuras 3.5 y 3.6, páginas 64 y 65). Esto es coincidente con trabajos anteriores (Murayama *et al.*, 1998) y se ha detectado también luego de largos períodos de conservación en frío (Dawson, 1992; Murayama *et al.*, 2002). Terasaki *et al.* (2006), determinaron cambios en la elasticidad de los tejidos de frutos harinosos, mediante mediciones no destructivas con vibrómetro que posiblemente no son detectados con mediciones de penetrometría tradicionales. El desarrollo de metodologías no destructivas para poder detectar problemas de harinosidad incipiente resultaría de gran utilidad. De todos modos, los panelistas entrenados tuvieron la capacidad de detectar la textura harinosa en duraznos antes de que se manifiesten los síntomas visuales (Crisosto y Labavitch, 2002). Por lo tanto, el análisis sensorial resulta una herramienta importante a la hora de caracterizar los frutos organolépticamente, para complementar las determinaciones instrumentales que pueden en ciertos casos ser insuficientes.

En el caso de pera Bartlett la maduración en planta hasta estadios tardíos puede resultar en frutos que muestran una reducción de la firmeza pero que presentan anomalías texturales vinculadas con la harinosidad y falta de jugosidad.

4.3. La pérdida de jugosidad de peras Bartlett maduras en el árbol por períodos prolongados se asocia con una serie de cambios inusuales en la degradación de la pared celular.

Como se describió anteriormente, los cambios texturales en los productos frutihortícolas están relacionados con diferentes modificaciones desde el punto de vista fisiológico que pueden incluir cambios en el equilibrio hídrico de los tejidos, la biosíntesis de polímeros fenólicos o la degradación de polisacáridos de pared celular. A fin de avanzar en la comprensión de los factores involucrados en el menor desarrollo de jugosidad de frutos de pera Bartlett madurados en el árbol se caracterizó la composición de la pared de los frutos en tres estados de maduración (temprano MT, medio MM y tardío MT). El contenido total de residuos insolubles en alcohol (AIR) que representa mayoritariamente a la pared celular y probablemente algo de almidón, disminuyó entre los estadios de madurez temprana (MT) y madurez media (MM) (Figura 3.7, página 66). Esta reducción es un hecho común observado durante el proceso de maduración de los frutos, que resulta de los cambios en el volumen de pared, el crecimiento de los frutos y también de la degradación de almidón (Chen y Mellenthine, 1981). Llamativamente no se observaron cambios en el contenido de AIR entre los frutos MM y SM, a pesar de ocurrir entre estos dos estadios un importante descenso de la firmeza. No obstante esta es una determinación muy grosera, que en el caso de peras puede particularmente presentar variación por la presencia de células pétreas, con paredes gruesas y altamente lignificadas (Jermyn y Isherwood, 1956). Dado que el tamaño de los frutos continúa incrementándose, la constancia en los niveles de AIR por kg de frutos sugiere que la biosíntesis de pared prosigue hasta estadios avanzados de la maduración en planta.

A fin de poder realizar un estudio más exhaustivo de las paredes celulares de los frutos en diferentes estados de madurez en planta, es posible fraccionar a los principales grupos de polisacáridos para evaluar así su solubilidad diferencial y posteriormente la distribución de tamaño molecular y composición (Brummell y Harpster, 2001). Como ya se ha descrito en varios frutos durante la madurez, se observó que la solubilización de pectinas en agua aumentó entre los estadios MT y MM (Figura 3.8, página 67) (Brummell, 2006). Una acumulación de poliuronidos solubles en agua junto con una reducción de pectinas insolubles fue previamente determinada en peras que maduraron en planta (Ben-Aire y Sonego, 1979; Yoshioka *et al.*, 1992). Llamativamente las pectinas solubles en agua disminuyeron luego del estadio MM; es así como los frutos que permanecieron en la planta hasta los 161 DPA (SM) y desarrollaron una textura anormal, mostraron un menor contenido de ácidos urónicos solubles en agua que las peras del estadio de MM, e incluso que las del estadio de MT. Esto coincide con algunos estudios previos que analizaron el desarrollo de problemas texturales en pera luego del almacenamiento. Así Murayama *et al.* (1998; 2002) describieron que peras almacenadas que desarrollaron textura anormal presentaron un menor contenido de poliuronidos solubles en agua que frutos con textura jugosa y fundente (Murayama *et al.*, 1998; 2002). En nuestro estudio el contenido de ácidos urónicos solubles en carbonato de sodio y KOH 1M de los frutos que maduraron en planta, aumentó hasta el estadio de madurez media, pero no presentó cambios posteriores (Figura 3.8, página 67), lo que difiere de estudios realizados en frutos que maduraron fuera de la planta, en los que las pectinas fuertemente unidas a la pared presentaron una disminución importante, en consonancia con el desarrollo de la textura normal (Murayama *et al.*, 1998; 2006; Zhou *et al.*, 2011). Estos resultados sugieren que la menor solubilización de las pectinas extraídas con agua y Na_2CO_3 , observada durante el proceso de maduración

de las peras en planta podría estar relacionada a un desarrollo de textura harinosa. De todas maneras, la solubilización de las pectinas entre los estadios MM y SM, no fue completamente detenida. De hecho, se observó un aumento marcado en la F-CDTA, que seguramente se produjo por la insolubilización de los poliuronidos solubles en agua (Figura 3.8, página 67). Se ha informado que el grado de esterificación de las pectinas decrece durante la maduración de las peras (Yoshioka *et al.*, 1992). La formación de sitios de unión de calcio, por desmetilación de poliuronidos mediada por la enzima pectin metilesterasa (PME), junto con el mantenimiento de un tamaño molecular adecuado, podría permitir la formación de puentes iónicos con calcio, y estar implicados en los cambios observados. Esto sería de interés para posteriores estudios.

Con respecto a los cambios en los diferentes azúcares que constituyen las fracciones extraídas entre los dos estadios iniciales (MT y MM), se observó una importante solubilización de Ara que luego procedió de manera más lenta, a diferencia de lo observado en la Gal, que aumentó a un mismo ritmo durante el proceso de maduración de las peras en el árbol (Cuadro 3.1, página 69). Una característica común en los cambios en la pared celular (PC) de los frutos, durante el proceso de maduración, es la hidrólisis de las cadenas laterales ricas en Ara y Gal (Gross y Sams, 1984). En estudios previos, se identificaron en peras Bartlett ramnogalacturonanos de tipo I (RG-I) altamente ramificados con cadenas laterales ricas en Ara (Dick y Labavitch, 1989). También se observó que los RG-I se degradan durante la maduración de las peras, con una pérdida inicial importante de Ara (Dick y Labavitch, 1989). Nuestros resultados mostraron que durante el proceso de maduración de peras Bartlett, la Ara fue el azúcar neutro de la pared celular más dinámico. Ahmed y Labavitch (1980) encontraron pérdidas sustanciales de ácido galacturónico y Ara durante la maduración de peras Bartlett. Dichas pérdidas aumentan la porosidad de la pared celular que inicialmente es

baja y podrían ser un factor limitante en el acceso de las hidrolasas a los glicanos de la PC (Baron-Epel *et al.*, 1988). Del análisis de todas las fracciones, se observa que la solubilización de la Ara se produjo marcadamente entre los estadios MT y MM, lo que sugiere que estaría relacionada, al menos en parte, con material asociado con el residuo no extraíble con KOH 4M. La pérdida de cadenas laterales de los RG-I es un componente importante de los cambios que afectan la firmeza de los frutos y también de sus propiedades texturales (Brummell, 2006) y resulta posible hipotetizar que la menor remoción de Ara observada entre los dos últimos estadios de madurez (MM y SM) podría redundar en pectinas más ramificadas disminuyendo el acceso de las enzimas hidrolíticas cuya acción suele ser más importante en estados avanzados de desarrollo y afectar la evolución de la textura típica de las peras.

Se sabe que la despolimerización de las pectinas tiene consecuencias importantes sobre la adhesión célula-célula, aunque la contribución de este proceso varía según el fruto considerado (Brummell, 2006). Si bien la disminución del tamaño molecular en peras no es tan drástica como en otras especies, Ahmed y Labavitch (1980) informaron que el peso molecular del homogalacturonano (HGA) decrece durante la maduración de peras. Asimismo, en peras Red Bartlett se observó una despolimerización de los poliuronidos solubles en agua durante el almacenamiento (Yoshioka *et al.*, 1992). En cambio, en el presente estudio, no se observó despolimerización ni en los poliuronidos solubles en agua ni en los solubles en carbonato; en cambio, se observó que los solubles en CDTA sufrieron una cierta despolimerización, solamente entre los dos primeros estadios (MT y MM) (Figura 3.10, página 71). Por lo tanto, la despolimerización limitada de las pectinas observada en el presente ensayo, cuando los frutos maduraron en la planta, es al menos inusual ya que se ha demostrado que la hidrólisis de poliuronidos es un evento tardío de la maduración

de muchos frutos, incluidas las peras (Hiwasa *et al.*, 2004; Brummell, 2006). Una menor despolimerización de pectinas fue relacionada con una textura inferior luego de una larga conservación en peras Marguerite y La France (Murayama *et al.*, 2006), al igual que lo observado en el presente estudio para el estadio SM. La despolimerización de las pectinas en peras en almacenamiento, fue correlacionada positivamente con la actividad de la poligalacturonasa (PG) (Yoshioka *et al.*, 1992). Fonseca *et al.* (2005) también encontraron que los factores químicos o físicos que reducen la resistencia a madurar de las peras (etileno o frío), inducen la expresión de varias proteínas de degradación celular incluidas la poligalacturonasa y la expansina. Los patrones de acumulación de la transcripción de los genes de las enzimas de despolimerización de las pectinas como la poligalacturonasa (*PcPG1* y *PcPG3*), mostraron una buena asociación con el ablandamiento de peras madurando en y fuera de las plantas (Murayama *et al.*, 2006). Asimismo, la práctica de anillado por sobre la zona de abscisión de los frutos, resultó en un aumento de la expresión de los genes de la PG anteriormente mencionados y una recuperación parcial de la solubilización de la pared celular, sin embargo, los cambios en el tamaño molecular de los poliuronidos no fueron directamente estudiados. Por otra parte, Murayama *et al.* (2006) sugirieron que la despolimerización de las pectinas por la acción de la PG estaría asociada no sólo al ablandamiento durante los estadios finales, sino también al desarrollo de una textura fundente (*melting*). A partir de los resultados hallados en nuestro estudio se podría hipotetizar que la menor remoción de Ara de los RG-I observada podría haber reducido la accesibilidad de las enzimas intervinientes en la despolimerización de las pectinas. Hiwasa *et al.* (2004) concluyeron que para obtener una textura suave y fundente en peras europeas como La France, se requiere tanto de la degradación de las pectinas como de los glicanos entrelazantes. En el mismo sentido, Murayama *et al.* (2006) determinaron que el grado de

despolimerización de hemicelulosas en peras La France y Marguerite Marillat fue mayor luego de un período de conservación corto que de uno largo y que esta disminución en la despolimerización de los glicanos resultó en una textura inferior de los frutos. En las peras maduras en planta, la despolimerización y solubilización de los glicanos entrelazantes fuertemente unidos (F-KOH 4M) ocurrió principalmente en la fase intermedia, aunque algunos glicanos derivados de la celulosa se solubilizaron en el estadio de SM (Figura 3.11, página72).

Los resultados sugieren que la pérdida de firmeza acompañada de un desarrollo de textura harinosa en frutos de pera Bartlett madurados en árbol se asocia con un desequilibrio en la degradación de pectinas, que incluye una menor despolimerización de manera conjunta con una menor remoción de Ara de los RG-I y/u otras modificaciones que aumentan las interacciones iónicas.

4.4. La piel de frutos de pera Bartlett muestra sustanciales diferencias en términos de contenido y composición de pared celular respecto a la pulpa. La insolubilización de pectinas observada en la pulpa de frutos cosechados en estado de madurez tardío no se observa en la piel.

Varios estudios han mostrado que desde el punto de vista de la fisiología de maduración y actividad metabólica existen claras diferencias entre la piel y la zona carpelar de los frutos. En ensayos en los que se midió la producción de etileno de diferentes tejidos en manzanas de la variedad Fuji, Rudell *et al.* (2000) determinaron una mayor tasa de producción de etileno en el tejido carpelar que en el cortical (pulpa) y en la piel, especialmente antes del climaterio, que indicaría que el evento de maduración se inicia dentro la zona interna de los frutos. Además, a pesar de que la piel presentó una tasa significativamente más alta de respiración que los otros tejidos, tuvo una tasa baja de producción de etileno.

El análisis de la pared celular de la piel de los frutos se realizó con el objetivo de determinar si en este tejido se observaban las mismas anomalías que en la pulpa de los frutos cuando maduran en planta. Además como es sabido, la piel de los frutos es la barrera inicial contra el ataque de patógenos y muchos de los cambios que ocurren en la pared celular durante el proceso de maduración pueden afectar la respuesta de las plantas frente a un amplio rango de patógenos (Ellis *et al.*, 2002; Vogel *et al.*, 2002, 2004; Vorwerk *et al.*, 2004).

Se observó que el rendimiento de AIR de la piel fue tres veces mayor al de la pulpa (Figura 3.13, página 75), lo que coincide con lo descrito en otros frutos (Renard y Ginies, 2009). Carpita y McCann (2000) señalan que las células epidérmicas suelen presentar un engrosamiento de la pared celular del lado que está en contacto con el

ambiente externo más allá de la cutícula y de ceras epicuticulares, por lo que es esperable que los tejidos de la piel presenten un mayor rendimiento de AIR.

Durante la maduración en planta se observó en la piel de las peras (a diferencia de lo ocurrido en la pulpa), un aumento en la proporción de pectinas solubles en agua de manera conjunta con una disminución de las solubles en Na_2CO_3 (Figura 3.14, página 76), hecho que como se indicó anteriormente, ocurre durante el proceso de maduración normal de numerosos frutos (Redgwell *et al.*, 1992; Huber y O'Donoghue 1993; Brumell y Labavitch 1997; Wakabayashi *et al.*, 2000).

En las fracciones pécticas iónica y covalentemente unidas de la piel se observó una relación entre azúcares neutros y ácidos urónicos mucho menor que en la pulpa (Figura 3.16, página 78), que sugiere que las pectinas de la piel presentarían menos ramificaciones o que tendrían mayores proporciones de HG. Renard y Ginies (2009) determinaron en la pared celular de la piel de ciruelas Golden Japan, una mayor riqueza de HG con respecto a RG que en la pulpa y una menor importancia relativa de las cadenas laterales (compuestas por azúcares neutros) respecto a las cadenas principales de RG en la fracción Na_2CO_3 . El grado de ramificación de los poliurónidos permite también estimar su capacidad de interacción con otros polímeros, es así como Batisse *et al.* (1996) encontraron en cerezas una menor relación AN/AU en cultivares blandos respecto a cultivares crocantes.

En la piel, los AN estuvieron mayoritariamente distribuidos en las F-KOH 4M y 1M de la pared, mientras que en la pulpa las fracciones con mayor contenido de AN fueron la F-Agua y F-CDTA (Figura 3.15, página 77). La presencia de menos ramificaciones de azúcares neutros en las pectinas de la piel podría redundar en una estructura de pared más compacta, lo que concuerda con la función de protección de la piel de los frutos. Asimismo, al analizar la composición de azúcares neutros, se observó

una mayor proporción de Xil y Glc en la piel (Cuadro 3.4, página 80), respecto a lo registrado en la pulpa (Cuadro 3.2, página 70), lo que confirma una mayor proporción de glicanos entrelazantes en la piel que en la pulpa. Se sabe que el rol principal de los glicanos entrelazantes es el de inmovilizar las microfibrillas de celulosa, reforzando de esta manera a la pared celular (Scheller y Ulvskov, 2010). El rol de las hemicelulosas en esta zona sería importante para el mantenimiento de la rigidez estructural. En peras Blanquilla (Martín-Carbejas *et al.* 1994) y Conference (Jermyn e Isherwood, 1956) el mayor contenido de Xil y Glc en la piel respecto de la pulpa, se explicó por la abundancia de esclereidas lignificadas que se ubican en las capas sub-epidérmicas, en las que la matriz de celulosa y hemicelulosas posee una mayor importancia relativa que las pectinas.

Con respecto a los cambios en la medida que progresó la maduración, en la piel, se observó una ligera despolimerización de las pectinas fuertemente unidas que ocurrió al final del proceso de maduración (Figura 3.17, página 81), siguiendo el patrón normal de maduración observado en numerosos frutos (Brummell, 2006). Contrariamente a lo registrado en la pulpa, en la piel de las peras no se observó despolimerización de glicanos entrelazantes (Figura 3.18, página 82). Los resultados muestran que la piel y pulpa difieren no sólo en su estructura (lo cual es esperable), sino además en su desensamblaje. La menor degradación de glicanos entrecruzantes antes mencionada, podría estar relacionada con la función protectora de la piel. Otra alternativa es que la expansión más marcada de las células del parénquima de la pulpa requiera un metabolismo más activo de la matriz de celulosa y glicanos de entrecruzamiento. Las pectinas de piel mostraron una menor abundancia relativa así como un menor grado de ramificación que las de pulpa. Por otra parte, la reducción en la solubilización de pectinas observada en la pulpa en estados tardíos no ocurre en la piel. Dado que la

remoción de cadenas laterales de RG-I es un cambio mucho más prominente en la pulpa, es posible que esto se traduzca en la menor alteración en el desensamblaje de pared de los tejidos externos al cosechar los frutos tardíamente.

4.5. La posición y la orientación de las peras dentro del canopy pueden determinar diferencias de temperatura de frutos de más de 10 °C y una reducción de radiación interceptada del 90%.

En el ensayo anterior (3.1) pudimos avanzar en la identificación de cambios en la pared celular que se asocian con el desarrollo de frutos con textura anormal cuando maduran en planta. Asimismo, las anomalías en el desensamblaje de pectinas parecieron estar confinadas a la pulpa mientras que la piel, naturalmente menos rica en poliuronidos y con menor ramificación, mostró al menos cambios más usuales respecto a estudios previos en otras especies frutales. Otro factor que afecta marcadamente la calidad y el comportamiento poscosecha de los frutos es la exposición solar (Ferguson, *et al.*, 1999; Kays, 1999; Wolf *et al.*, 1999; Mattheis y Fellman, 1999; Wolf y Ferguson, 2000; Murray *et al.*, 2005). Así, existen numerosos estudios mostrando que los frutos más expuestos del canopy pueden sufrir daños como el asoleado (Wade *et al.*, 1993; Doods *et al.*, 1997; Yuri, *et al.*, 2000b; Schrader *et al.*, 2001; Raffo e Iglesias, 2004). De todos modos, en condiciones en las que no ocurre daño, se ha mostrado que la buena iluminación favorece el desarrollo de frutos con mayores niveles de azúcares y antioxidantes como el ácido ascórbico (Woolf y Ferguson, 2000; Lee y Kader, 2000). Una mayor exposición solar puede afectar también el contenido de pigmentos (Lewallen y Marini 2003; Murray *et al.* 2005; Solovchenko *et al.*, 2006). Por el contrario, los frutos ubicados en zonas sombreadas muestran en muchos casos una calidad inferior y un peor comportamiento durante el almacenamiento (Proctor y Loughheed, 1976; Ferguson *et al.*, 1999; Awad *et al.*, 2001; Reay y Lancaster, 2001). Estos efectos se asocian tanto con diferencias de temperatura como de la radiación total interceptada. El

grado en el que éstas se manifiestan depende del modo de conducción utilizado y de las condiciones climáticas de la zona de producción.

A fin de evaluar esto en el caso de las peras Bartlett producidas en el Alto Valle de Río Negro, se determinó la temperatura y la radiación PAR en frutos ubicados en la cara norte del árbol y con exposición a la luz solar directa (tratamiento Sol) y en frutos localizados en el interior del canopy en la sección sur de los árboles (tratamiento Sombra). La sección sur de las plantas, lugar que corresponde al ambiente donde se desarrollaron las peras del tratamiento Sombra, recibió en promedio un 90% menos de radiación PAR que la norte (Figura 3.19, página 84). En cuanto a la temperatura, se registró un gradiente entre la pulpa de la cara expuesta (CE) y no expuesta (CNE) de los frutos del tratamiento Sol, que alcanzó los 12 °C en las horas más cálidas de un día sin nubosidad y con temperaturas de aire elevadas (34 °C) y de 4,5 °C en un día menos cálido (23 °C) (Figura 3.24, página 89).

En general, las diferencias observadas en el presente ensayo entre la temperatura del aire y los frutos, se produjeron en períodos cortos del día, entre las 10 y las 16 h y en frutos expuestos a la radiación (Figuras 3.21 y 3.33, páginas 86 y 107). De manera similar, Saudreau *et al.* (2009) comprobaron en manzanas que las máximas temperaturas de frutos se produjeron entre las 11 y las 16 h. En varios estudios, se determinó que las diferencias de temperatura observadas en los frutos entre las caras expuestas y no expuestas a la radiación podían alcanzar 10-15 °C (Woolf *et al.*, 2000). Este hecho fue observado en diferentes frutos: paltas (Woolf, *et al.*, 1999), manzanas (Parchomchuk y Meheriuk, 1996; Ferguson *et al.*, 1998; Raffo e Iglesias, 2004) y tomates (Schroeder, 1965), y ocurre con mayor frecuencia en zonas templadas con climas secos. En manzanas, paltas, tomates y calabazas se han observado temperaturas de pulpa mayores a 40 °C cuando los frutos se encuentran expuestos al sol, aún cuando

las temperaturas de aire fueron inferiores a 30 °C (Hopp, 1947; Ferguson *et al.*, 1998; Woolf *et al.*, 1999). Las temperaturas alcanzadas por los frutos en el campo están fuertemente asociadas con su exposición directa a la radiación solar (Ferguson *et al.*, 1998; Saudreau *et al.*, 2009), dificultando discriminar a campo los efectos que ejercen ambos factores sobre la calidad de los frutos.

La exposición a la radiación es un factor que varía según sea la posición dentro de la copa del árbol, en la rama de los frutales y en el propio fruto y afecta no sólo a la temperatura de los frutos sino también el desarrollo y la fotosíntesis del follaje. En este trabajo, se determinó que la radiación PAR recibida afectó el peso específico de las hojas, ya que las del tratamiento Sombra presentaron valores menores a los del tratamiento Sol (Figura 3.20, página 85) y a los de los tratamientos Mylar-D y Stretch (pág. 105). Esto concuerda con lo observado por Faust (1989), quien determinó que la estructura de las hojas de manzanos varió según su ubicación en la planta (brotes o dardos) y su exposición a la luz. De manera similar, Cowart (1935) y Jackson y Palmer (1977) encontraron que las hojas de manzano que se desarrollan en la sombra presentaron una mayor superficie, pero fueron más finas. En otro estudio Barden (1974, 1977), determinó que hojas sombreadas, también presentaron un menor desarrollo del tejido de empalizada, menor peso específico, rangos bajos de fotosíntesis neta y una menor tasa de respiración. Si bien las hojas de perales mantienen la apertura estomática frente a pequeñas variaciones en las condiciones de luz (Knapp y Smith, 1990), las características morfológicas y de fotosíntesis de las hojas de los frutales de climas templados son fuertemente influenciadas por las condiciones de luz en las cuales se desarrollan. Es así que Garriz *et al* (1998) determinaron en peras Bartlett que las hojas expuestas a la luz presentaron un espesor mayor que hojas sombreadas, debido a un mayor grosor en la epidermis y en el parénquima en empalizada.

En síntesis, los resultados muestran que en la principal zona de producción de pera Bartlett de nuestro país, la posición de los frutos en la planta provoca diferencias de temperatura de más de 10°C y de variaciones en los niveles de radiación del orden del 90%.

4.6. Los frutos provenientes de zonas soleadas del árbol son más firmes a la cosecha que los de zonas sombreadas. Las diferencias permanecen aún luego del almacenamiento poscosecha.

La posición de las peras dentro del canopeo, resultó en marcadas diferencias en la temperatura y radiación entre frutos, en ensayos realizados en el alto Valle de Río Negro. Como se describió anteriormente, se ha determinado que esto puede traducirse en variaciones en la composición, color, comportamiento poscosecha y susceptibilidad a desórdenes fisiológicos (Ferguson, *et al.*; 1999; Kays, 1999; Solovchenko *et al.*, 2006). La modificación de los valores de firmeza por una exposición solar precosecha fue previamente informada en palta (Woolf *et al.*, 1999; Wolf y Ferguson, 2000). Shaw y Rowe (1982) informaron que un incremento de la exposición a la luz solar aumenta la firmeza en manzanas, particularmente en la sección expuesta del fruto. En el presente estudio, la firmeza de peras Bartlett a cosecha fue mayor en el tratamiento Sol que en el Sombra, y luego de madurar la firmeza decreció en ambos casos pero las peras del tratamiento Sol presentaron siempre mayor firmeza (Figura 3.26, página 92). Aún dentro de un mismo fruto la cara expuesta siempre se mostró más firme que la no expuesta. También se registró una mayor firmeza en el lado expuesto al sol de manzanas cv. Pacific Rose (Opara y Tadesse, 2000) y cv. McIntosh (Studman *et al.*, 1997).

A pesar de los distintos niveles de firmeza, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en el contenido de sólidos solubles ni la acidez titulable (Figura 3.25, página 91). Anteriormente, y por el contrario, altos niveles de radiación se habían asociado a un aumento en el contenido de materia seca en paltas (Woolf *et al.*, 1999) y de SS en diversos frutos (Mattheis y Fellman, 1999). De todas

maneras otros estudios no encontraron diferencias significativas (Kliwer y Lider, 1968; Crippen y Morrison, 1986). Debido a que el tamaño de las peras de los diferentes tratamientos fue similar, la falta de diferencias en el contenido de SS no se puede justificar por una compensación que se podría dar por una mayor traslocación de azúcares, debida a un mayor crecimiento en los frutos expuestos a la radiación. A pesar de que las hojas y los frutos estuvieron en una posición en donde recibieron una mejor iluminación, esto no necesariamente resultó en un mayor contenido de SS. Las altas temperaturas a las que llegaron los frutos expuestos podrían haber tenido un efecto negativo en la traslocación de asimilados (Dinar y Rudich, 1985).

En principio, las diferencias observadas en la firmeza de las peras en el presente trabajo, podrían atribuirse a un retraso en la madurez de los frutos más firmes. Sin embargo, se debería haber encontrado un mayor contenido de SS y menor acidez titulable, lo cual no ocurrió (Figura 3.25, página 91). Además otros cambios que no necesariamente se asocian con el proceso de maduración de las peras, como la síntesis de antocianinas en la piel, fue inducida por la exposición a la radiación (Figura 3.25, página 91). Llamativamente, se demostró en otros frutos que la exposición a la radiación aceleró la madurez en vez de retrasarla (Murray *et al.* 2005). Por el contrario, Crisosto *et al.* (1995; 1997) encontraron que los frutos de carozo que crecieron en la parte exterior de la copa de los árboles presentaron una mayor vida de estante y potencial de conservación y una menor incidencia de decaimiento interno. También se sabe que tratamientos térmicos realizados a tomates verdes, durante 3 días a 38 °C, inhibieron los procesos relacionados con la madurez, como la producción de etileno, desarrollo de color y ablandamiento, y esta tendencia se revirtió cuando los frutos se llevaron a 20 °C, lo que indicaría una respuesta común a las altas temperaturas (Lurie *et al.*, 1996).

Por lo tanto, todos estos resultados muestran que al menos algunas de las modificaciones inducidas por las condiciones de radiación y temperatura en precosecha, estuvieron más allá de ser un cambio en el momento en que se produjo la maduración de las peras.

4.7. Los frutos expuestos al sol presentan a la cosecha mayor proporción de pectinas solubles en agua y álcali y hemicelulosas de mayor tamaño que los no expuestos

A pesar de que algunos trabajos mencionan que los frutos que se desarrollan en el interior de los árboles presentan menores valores de firmeza, no se ha intentado relacionar estos contrastes con una diferente composición de la pared celular, número de células o presión de turgencia. Choi *et al.* (2002) determinaron en cerezas que en general los cultivares más firmes presentaron una mayor cantidad total de AIR por fruto que los más blandos. En el presente trabajo, no se encontraron diferencias en el contenido de AIR entre los tratamientos Sol y Sombra (Figura 3.27, página 93), sugiriendo que existen otros factores, además del contenido total de pared celular, que estarían determinando las diferencias de firmeza entre los tratamientos. Por ello, se procedió a caracterizar este residuo mediante el fraccionamiento secuencial y la determinación de los perfiles del tamaño molecular entre los tratamientos con diferentes niveles de exposición solar.

Estudios previos establecieron que los mayores cambios observados durante el proceso de maduración de la peras ocurría en los polisacáridos no celulósicos (Hiwasa *et al.* 2004). Al momento de cosecha la proporción de pectinas solubles en agua fue mayor en las peras del tratamiento Sol que en las de la Sombra (Cuadro 3.5, página 95). Solamente una porción de los poliuronidos se solubiliza en agua, porque si bien durante la maduración hay una hidrólisis de las pectinas unidas covalentemente a la pared celular, muchas de ellas permanecen asociadas a la pared mediante uniones iónicas con moléculas pécticas insolubles (Brummell y Harpster, 2001). De esta manera, la mayor proporción de pectinas solubles en agua observada en el tratamiento Sol podría deberse a un mayor grado de esterificación de los poliuronidos, los cuales podrían ver reducida

su habilidad de formar puentes iónicos y de ese modo formar complejos más lábiles (Yoshioka *et al.*, 1992). Otra posibilidad podría ser una mayor prevalencia de cadenas laterales en los RG-I, lo que podría comprometer la unión de las pectinas por impedimento estérico.

También se observó en los frutos del tratamiento Sol a cosecha una mayor proporción de AN solubles en las fracciones KOH 1M y 4M, mientras que en tratamiento Sombra la mayor proporción de AN se obtuvo en la fracción Na₂CO₃ (Cuadro 3.8, página 100), lo que implicaría la presencia de pectinas unidas a la matriz de glicanos en los frutos expuestos. Se han informado uniones covalentes entre XG y las cadenas laterales de arabinanos/galactanos de los RG-I en cultivos de células de rosas (Thompson y Fry, 2000) y en cultivos celulares de angiospermas (Popper y Fry, 2005). Incluso luego de extracciones con álcalis concentrados, una proporción de pectinas permanecen asociadas a la celulosa; quizás algunas cadenas laterales de los RG-I también se entrelazan con las microfibrillas de celulosa, o están unidas covalentemente a las moléculas de glucanos que están a su vez entrelazados con la celulosa (Vincken *et al.*, 2003). De todos modos, si bien la presencia de RG-I enriquecidos con Ara podría ser responsable de una parte del aumento de la proporción de AU y AN solubles en las fracciones de KOH a cosecha en los frutos expuestos al Sol, esto debería necesariamente resultar también en un enriquecimiento de Gal y Ram, que no se observó. En conjunto, estos resultados sugieren que las condiciones más severas necesarias para la solubilización de AN de la pared celular en las peras del tratamiento Sol a cosecha, podría ser el resultado de un aumento de las asociaciones de HG con las hemicelulosas y no con RG.

Las peras del tratamiento Sol mostraron glicanos entrelazantes fuertemente unidos (KOH 4M) con mayor peso molecular medio que los de los frutos del

tratamiento Sombra (Figura 3.29, página 102). Los cambios en el peso molecular de los XG, polímeros predominantes en esta fracción (Brumell y Harpser, 2001) están relacionados con la regulación de la resistencia mecánica de la pared celular (Wakabayashi, 2000).

La mayor proporción de pectinas solubles en álcali así como la presencia de hemicelulosas de mayor tamaño observada en las peras del tratamiento Sol con respecto a las no expuestas fueron las principales diferencias que parecieran asociarse de manera positiva con la mayor firmeza de los frutos al momento de la cosecha.

4.8. Durante la maduración la degradación de la pared celular ocurre en ambos grupos de frutos pero la solubilización de pectinas es menos marcada en los frutos sombreados. Esto se asocia con una menor remoción de cadenas laterales de RG-I más que con una menor despolimerización.

Las peras del presente ensayo presentaron en general cambios en los polisacáridos de la pared celular durante el proceso de maduración similares a los informados previamente en la maduración fuera de planta en estudios anteriores (Ben Aire y Sonego, 1979; Ahmed y Labavitch, 1980; Yoshioka *et al.* 1992; Hiwasa *et al.* 2004). A pesar de ello, se observaron algunas diferencias entre los tratamientos Sol y Sombra, luego de los 13 d de almacenamiento a 20 °C. La proporción de AU solubles en la fracción agua aumentó en el tratamiento Sombra y se mantuvo sin cambios en el tratamiento Sol y en ambos tratamientos se observó una disminución de pectinas solubles en F-Na₂CO₃, siendo la reducción más abrupta en las peras del tratamiento Sombra (Cuadro 3.5, página 95). Este aumento en la solubilización de las pectinas durante el proceso de maduración fue previamente informado en numerosas especies durante la maduración (Redgwell *et al.*, 1992; Huber y Donoghue, 1993; Brummell y Labavitch, 1997; Wakabayashi *et al.*, 2000; Brummell *et al.*, 2004), pero no existen antecedentes como el presentado en este trabajo, de que pueda modificarse por factores como la radiación y la temperatura en precosecha. Un descenso importante en el contenido de AU de la F-Na₂CO₃ junto con un aumento en la F-Agua fue informado durante la maduración de peras La France, que presentan un ablandamiento similar al de las peras Bartlett durante la maduración. Por su parte en peras Yali, que no presentan un descenso en los valores de firmeza, no se observaron cambios en el contenido de AU de estas dos fracciones (Hiwasa *et al.*, 2004). Esto sugiere que la solubilización de pectinas

presenta un rol importante en la disminución de la firmeza y como se concluyó anteriormente en el desarrollo de frutos jugosos. La solubilización de las pectinas fue correlacionada con la relajación del entramado XG-celulosa y el hinchamiento de la pared celular (Brummell, 2006). Hiwasa *et al.* (2004) determinaron que el modo en que se produce el desensamblaje de las pectinas es un factor importante en la determinación de la firmeza en peras y la menor solubilización observada en las peras del tratamiento Sol podría ser uno de los factores determinantes de los mayores valores de firmeza de estas peras.

En el presente ensayo, se observó una diferencia importante en la proporción de Ara que decreció en las pectinas fuertemente unidas (F- Na_2CO_3) de las peras del tratamiento Sombra, de manera conjunta con un enriquecimiento de Ara en la F-Agua (Cuadro 3.6, página 96). Al no encontrarse diferencias en el grado de polimerización de las pectinas entre las peras del tratamiento Sol y Sombra (Figura 3.28, página 98), y ante las diferencias observadas en las pérdidas de Ara, se infiere que la menor solubilización de las pectinas en las peras del tratamiento Sol estaría dada por una menor remoción de cadenas laterales de Ara de los RG-I fuertemente unidos, más que a un menor peso molecular de los poliurónidos.

La abundancia de Ara y Xil y la menor presencia de Glc en la fracción KOH 1M luego de 13 días de almacenamiento a 20 °C (Cuadro 3.7, página 99), sugieren la presencia de una proporción importante de arabinoxilanos. Trabajos previo han sugerido que los xilanos podrían tener una abundancia importante en pera (Murayama *et al.*, 2006).

El proceso de despolimerización de los glicanos entrelazantes progresó durante el almacenamiento a 20 °C en los frutos de ambos tratamientos, pero luego de la madurez, los frutos del tratamiento Sol que fueron más firmes, mostraron una menor

proporción de glicanos de entrecruzamiento de bajo peso molecular que los del tratamiento Sombra, que presentaron menores niveles finales de firmeza (Figura 3.29, página 102).

Los resultados indican que las condiciones de radiación y temperatura afectan la textura de las peras Bartlett, y este es el primer estudio que analiza el modo en que las condiciones ambientales pueden modular la plasticidad de la pared celular durante el proceso de maduración fuera del árbol.

4.9. El contraste de firmeza entre frutos soleados y sombreados no se produce sólo por diferencias de temperatura sino que existiría una influencia de la radiación total interceptada. La radiación UV-B posee influencia sobre el sonrojo pero no sobre la textura.

Las diferencias antes descritas en el desarrollo de color de piel, la firmeza y composición de pared celular de las peras Bartlett en función del grado de exposición solar estaría relacionada tanto con las variaciones en la temperatura de los frutos, como con la radiación interceptada, ya que ambos factores son afectados en forma significativa en función de la posición en el canopeo. Aún dentro de la radiación global se podría hipotetizar que los efectos se asocian con alguna región del espectro electromagnético en particular. Las ondas de radiación interceptadas por los vegetales más relevantes desde el punto de vista fisiológico en condiciones de cultivo son la radiación fotosintéticamente activa (PAR) y la radiación UV (Flore y Lakso, 1989; Frohnmeyer y Staiger, 2003). Existen trabajos que muestran que ambas pueden por sí mismas ejercer numerosos efectos sobre los vegetales (Rhom, 1991; Byers, *et al.*, 1991; Lauri, *et al.*, 1997, 1998; Bosiouny, 1998; Wünsche y Lakso, 2000; Frohnmeyer y Staiger, 2003; Cisneros-Zevallos, 2003; Lutz *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2011).

Se ha sugerido que la historia de exposición a la radiación solar de los frutos es una de las principales causas de la variabilidad en la calidad de los frutos a cosecha y en poscosecha (Nunes, 2008). A fin de poder comenzar a discriminar algunos de estos efectos se realizó un ensayo en el que se colocaron films con diferente capacidad de absorción de la radiación UV en diferentes árboles: Stretch (transparente a la radiación UVB) y Mylar-D (con alta absorbancia de esta región). El tratamiento Mylar-D disminuyó la radiación UVB a campo en un 75% (Figura 3.31, página 105) y a su vez

ambos tratamientos con films redujeron la radiación PAR en un 20% con respecto a la radiación recibida por el tratamiento Sol, pero en forma similar entre sí (Figura 3.32, página 106). De todas maneras, la temperatura de los frutos fue similar en los tres tratamientos expuestos: Sol, Mylar-D y Stretch (Figuras 3.24 y 3.35, páginas 89 y 109).

Al momento de cosecha, la firmeza de los frutos provenientes de los árboles en los que se colocaron ambos tipos de films, presentaron valores intermedios respecto de los frutos de los tratamientos Sol y Sombra (Figura 3.37, página 112), sugiriendo que la radiación posee implicancia sobre la firmeza de los frutos. De todos modos, dado que los filtros cubrían la totalidad de la planta, no es posible determinar si el efecto se debió a la radiación recibida directamente por los frutos o a una influencia indirecta a través de la PAR recibida por las hojas.

Por otra parte, las peras de los árboles con los tratamientos Mylar-D y Stretch no difirieron entre sí, indicando que el efecto de la radiación UV sobre la textura (al menos en las condiciones ambientales del Alto Valle de Río Negro durante el año estudiado) no fue significativo.

La diferente exposición a la radiación también afectó el color de los frutos: las peras del tratamiento Sombra presentaron mayores valores de *Hue* y L^* que las caras expuestas de las peras de los tratamientos Sol, Stretch y Mylar-D (Cuadro 3.9, página 119), indicando una zona de enrojecimiento o sonrojo. Tanto en uvas (Kliewer y Smart, 1989) como en manzanas (Solovchenko *et al.*, 2006), se había asociado una mayor exposición a la radiación solar con un aumento en el contenido de antocianinas. Una baja intensidad de luz reduce el desarrollo del color en cultivares de manzanas rojas (Campbell y Marini, 1992), condición que se da frecuentemente en frutos que se desarrollan en el interior de la copa del árbol. Asimismo, en este estudio la CNE de los frutos de los tratamientos Sol, Stretch y Mylar-D presentó valores de *Hue* y L^* que no

se diferenciaron de los valores obtenidos en los frutos del tratamiento Sombra (Cuadro 3.9, página 119). Huang *et al.* (2009) determinaron que el embolsado de frutos de perales promovió la degradación de la clorofila e inhibió la síntesis de antocianinas. En el momento de la cosecha, la CE de las peras del tratamiento Mylar-D presentaron una menor tonalidad roja con respecto al tratamiento Sol y Stretch, y un valor de *hue* similar al del tratamiento Sombra (Cuadro 3.9, página 119). Esto indica que el efecto de la radiación sobre la coloración, se relaciona más con la intercepción de la radiación UV que con las diferencias en temperatura de los frutos o con la PAR. Si bien en nuestro ensayo no se determinó el contenido de antocianinas, es sabido que éste se correlaciona de manera positiva con el porcentaje de cobertura de color rojo (De Angelis *et al.*, 2011). Se ha demostrado que la radiación UV induce a la enzima fenilalanil amonioliasa (clave en la síntesis de compuestos fenólicos) y a la chalcona sintasa (catalizadora del primer paso de la ruta de síntesis de los flavonoides) (Logemann *et al.*, 2000), y que además aumenta la síntesis de antocianinas (Arakawa, 1985). La inducción de la síntesis de antocianinas por la radiación solar está regulada por un factor de transcripción de *Myb* (Matus *et al.*, 2009).

Por otra parte, la diferente exposición a la radiación no afectó significativamente la acidez titulable ni el contenido de sólidos solubles de las peras de los diferentes tratamientos (Figura 3.36, página 110). Estos dos índices no son buenos indicadores de la madurez de peras Bartlett debido a la variabilidad que presentan entre temporadas y la poca variación durante el período de cosecha (Pro Río Negro, 2010).

En síntesis, las diferencias de firmeza entre frutos soleados y sombreados no se debe sólo a la distinta temperatura de los frutos en función de su exposición sino que existiría una influencia de la radiación total interceptada. Al mismo tiempo la radiación UVB posee influencia sobre el sonrojo pero no sobre la textura.

4.10. Las condiciones de cultivo poseen una importante influencia sobre la eficacia de los tratamientos poscosecha con 1-MCP. Las mejores respuestas se observan en los frutos provenientes de posiciones soleadas dentro de la copa del árbol.

El etileno posee un rol central en la regulación del proceso de maduración en frutos climatéricos. Por su parte, el 1-metilciclopropeno (1-MCP) es un inhibidor de la acción de esta hormona de desarrollo relativamente reciente, y que ha demostrado ser efectivo para controlar la maduración y reducir el deterioro poscosecha en numerosos frutos (Blankenship y Dole, 2003). El 1-MCP ha sido eficaz para retrasar el ablandamiento y reducir la actividad de varias enzimas asociadas al desensamblaje de pared celular: tratamientos de inmersión con soluciones con 1-MCP en peras (Zhou *et al.*, 2011) y en ciruelas (Manganaris *et al.*, 2007) redujeron el ablandamiento de los frutos, lo cual fue asociado a una disminución de la actividad de poligalacturonasa, endoglucanasa y β -galactosidasa.

En el presente trabajo, el 1-MCP demostró retrasar el proceso de madurez disminuyendo la pérdida de firmeza y reduciendo la degradación de la clorofila, en todos los tratamientos evaluados (Figuras 3.39, 3.40 y Cuadro 3.9, páginas 120, 121 y 119). Esto concuerda con resultados previos en los que los tratamientos con 1-MCP atrasaron el ablandamiento en peras cv. Bartlett, Passe Crasanne, Packham's Triumph y d'Anjou (Lelievre *et al.*, 1997; Argenta *et al.*, 2003; Ekman *et al.*, 2004; Trincherro *et al.*, 2004; Bai *et al.*, 2006; Moya *et al.*, 2006).

Se sabe que el 1-MCP inhibe la síntesis de etileno en peras (De Wild *et al.*, 1999; Baritelle *et al.*, 2001; Argenta *et al.*, 2003; Hiwasa *et al.*, 2003b; Ekman *et al.*, 2004; Trincherro *et al.*, 2004), pero a pesar del gran número de trabajos con resultados

muy favorables también se ha informado que este compuesto puede tener un efecto variable. La eficacia de los tratamientos con 1-MCP se ve altamente influenciada por la especie y cultivar; asimismo, se han descrito diferencias en función de las condiciones de crecimiento y la madurez de los frutos (Watkins, 2006). Es sabido que la capacidad de respuesta de un determinado producto al 1-MCP varía de un país a otro, hecho que no sólo se relaciona con las variedades cultivadas en cada región, sino también con las condiciones de precosecha y prácticas que determinan las características del fruto, la producción de etileno, y probablemente muchas otras diferencias en la fisiología del proceso de maduración. La variabilidad de respuesta de tratamientos poscosecha al 1-MCP es un problema para la industria de pera fresca (Trincherio *et al.*, 2004). Si bien se ha sugerido que las condiciones previas a la cosecha (por ejemplo, diferentes regímenes de riego, la incidencia de la luz y/o temperatura), así como la manipulaciones del follaje de los árboles que conducen a diferentes tamaño de los frutos (raleo, anillado, poda de verano, etc) o posiciones de los frutos en el árbol (por ejemplo, arquitectura de la planta, el sistema de conducción), pueden ser las posibles causas de esta variabilidad (Sozzi y Beaudry, 2007), los trabajos que intenten identificar la significancia de esos factores de precosecha en la eficacia de los tratamientos con 1-MCP son muy escasos.

Para todas las condiciones precosecha evaluadas en el presente estudio, el 1-MCP redujo el ablandamiento respecto a frutos control (datos no mostrados). De todos modos la inhibición del ablandamiento fue mucho más marcada en las peras del tratamiento Sol, observándose que en el lado expuesto fueron 5,25 veces más firmes que las del tratamiento Sombra después de un período de almacenamiento de 23 d (Figura 3.40, página 121). Al mismo tiempo, se detectaron diferencias significativas entre la CE y CNE en las peras del tratamiento Sol (valores superiores de firmeza de la CE) tratadas con 1-MCP confirmando que la mayor radiación PAR interceptada y temperatura

asociada modifican la textura. La eficacia del 1-MCP sobre la retención de la firmeza disminuyó un 46-47% cuando se aplicó a los frutos de los tratamientos Stretch y Mylar-D, en comparación con la de las peras del tratamiento Sol. A pesar de esto, las peras de los tratamientos Stretch y Mylar-D sometidas a la acción del 1-MCP, mostraron una significativa disminución en la tasa de ablandamiento respecto a los frutos del tratamiento Sombra al final del experimento (Figura 3.40, página 121). Las peras que recibieron la radiación filtrada por los dos films con diferente capacidad de absorción en la región UV y tratados con 1-MCP no presentaron diferencias de firmeza.

En este caso, nuevamente se observa que los factores que influyen más en el ablandamiento de las peras serían la temperatura y la radiación PAR más que la radiación UVB. El retraso en el desarrollo de color superficial amarillo fue, al igual que la firmeza, más elevado en las peras del tratamiento con mayor exposición solar (Cuadro 3.9, página 119).

Al analizar la pared celular de los frutos, se pudo comprobar que el 1-MCP retrasó la solubilización de las pectinas en forma más marcada en los frutos del tratamiento Sol, que en los ubicados en sitios menos expuestos (Cuadro 3.10, página 124). La pequeña modificación en la composición de AN observada en las fracciones pécticas luego de 13 y 23 d (Cuadro 3.11, página 125), sugiere que los cambios durante la poscosecha ocurrieron en la cadena principal de los RG-I y HG más que en las cadenas laterales como lo observado en etapas intermedias del desarrollo en el ensayo de ontogenia, en donde se observaron pérdidas importantes de Ara entre los primeros estadios (MT y MM) y una vez avanzado el proceso de maduración la tasa de remoción de Ara disminuyó (Cuadro 3.1, página 69).

Por último el tratamiento con 1-MCP disminuyó la despolimerización de los glicanos entrelazantes débil y fuertemente unidos en el tratamiento Sol (Figuras 3.44 y

3.45, páginas 132 y 133). Los resultados de este ensayo muestran que la exposición al sol y las altas temperaturas asociadas antes de la cosecha, puede dar lugar a diferencias significativas en la tasa de ablandamiento de frutos tratados con 1-MCP y ser a su vez una fuente de variabilidad. Este hecho debería tenerse en cuenta cuando las condiciones óptimas de tratamiento de 1-MCP (tiempo de exposición y la concentración) están siendo evaluadas. La concentración de 1-MCP puede ser un factor que limita la aplicación de esta tecnología debido a que altas concentraciones puede causar excesiva demora en la maduración o incluso, impedirla (Sozzi y Beaudry, 2007).

Tradicionalmente se ha dado gran importancia a la poda de los árboles frutales como estrategia para lograr una exposición pareja y minimizar los sitios sombreados (Marini y Barden, 1982; Lakso, 1984; Lauri *et al.*, 2004; Raffo *et al.*, 2011), a fin de evitar zonas con menor capacidad fotosintética (Burnside y Bhöning, 1957; Robinson *et al.*, 1983; Rhom, 1991). Desde el punto de vista de los frutos la mayor iluminación se correlaciona con mejor desarrollo de compuestos antocianicos, altos niveles de SS y ácido ascórbico (Proctor y Loughheed, 1976; Lee y Kader, 2000; Awad *et al.*, 2001; Reay y Lancaster, 2001).

En función de lo mencionado, este trabajo muestra que la exposición solar posee además un efecto positivo desde el punto de vista de la textura (frutos más firmes), la velocidad de ablandamiento (frutos que se ablandan más lentamente) y la eficacia de los tratamientos con 1-MCP (frutos en los que el retraso de la madurez buscado es más marcado). Por otra parte, la selección de una concentración apropiada de 1-MCP puede depender no sólo de la especie y variedad en que se aplica, sino además de las condiciones de precosecha (por ejemplo, incidencia de la luz). En peras 'Bartlett', el sonrojo puede ser utilizado para detectar la mayor parte de los frutos expuestos al sol, más sensibles a la exposición al 1-MCP que los frutos sombreados.

Capítulo 5. CONCLUSIONES

La calidad de los frutos involucra diferentes atributos, pero sin duda la textura es uno de los de mayor importancia. Un aspecto que resulta problemático, más allá de los valores absolutos de firmeza de los lotes, es la variabilidad existente entre frutos de un mismo lote y aún en partes dentro de un mismo fruto. Además de las características texturales propias de cada variedad, es sabido que las condiciones climáticas de la región de producción y de manejo del monte frutal afectan la calidad de los frutos. Varios estudios analizaron la influencia de las condiciones de precosecha sobre la incidencia de desórdenes fisiológicos, el contenido de antioxidantes, el color, los niveles de azúcares y la acidez de los frutos. En cambio, con relación a la textura los estudios son mucho menos numerosos. Se ha descrito en diferentes frutos que la temperatura y posición en el canopeo puede tener influencia en la firmeza, pero llamativamente, no existían trabajos que evalúen la influencia de factores ambientales de precosecha en la estructura, composición y desensamblaje de pared celular. En ese sentido, se decidió evaluar la influencia de la temperatura y de la radiación sobre el ablandamiento y la pared celular de las peras Bartlett producidas en el Alto Valle de Río Negro. Los resultados del presente trabajo mostraron que la posición y la orientación de las peras dentro del canopeo pueden resultar en diferencias significativas de temperatura (± 10 °C) y de radiación (disminución de hasta un 90 % PAR). Estas diferencias tienen implicancias en la calidad de los frutos, ya que las peras provenientes de zonas soleadas del árbol fueron notablemente más firmes a la cosecha que las de las zonas sombreadas. Por otra parte, se pudo determinar que estas diferencias poseen importancia en la conservación de los frutos ya que perduraron aún luego del almacenamiento. Al momento de cosecha, la mayor firmeza de los frutos expuestos, pudo relacionarse con

una mayor proporción de pectinas solubles en agua y álcali y con hemicelulosas de mayor tamaño que los no expuestos. Si bien la degradación de la pared celular ocurrió tanto en frutos sombreados como soleados, la solubilización, despolimerización de pectinas y la remoción de cadenas laterales de RG-I fueron más marcadas en los frutos sombreados. De esta manera, se confirmó la segunda hipótesis planteada en este trabajo, ya que la exposición solar de las peras incrementó la firmeza a cosecha y luego de su conservación y eso se asoció con cambios tanto en la composición como en el desensamblaje de la pared celular de los frutos.

Debido a que la diferente exposición solar resultó en frutos que presentaron distinta temperatura y también diferentes niveles de radiación UV y visible, se decidió comenzar a diferenciar los factores responsables de los efectos descritos anteriormente en la firmeza, composición y metabolismo de pared celular. La utilización de películas con distinta capacidad de absorción de radiación UV para cubrir las plantas, permitió contar con tratamientos en los que los frutos aun con igual temperatura, recibieron similares niveles de radiación total entre sí, pero diferentes niveles de radiación UV. Igualmente la colocación de los films provocó una reducción de 20% de la radiación PAR. El análisis de los frutos soleados, sombreados y con las dos películas con diferente capacidad de absorción UVB permitió concluir que el contraste de firmeza entre frutos soleados y sombreados, no se produce sólo por diferencias de temperatura sino que existiría una influencia de la radiación total recibida. Dado que el sombreado se realizó en toda la planta resulta difícil determinar si este efecto se debió a una influencia directa por la menor radiación incidente en los frutos, en forma indirecta a partir reducción de la luz interceptada por las hojas o a ambos efectos combinados. Por otra parte, si bien la radiación UVB poseería influencia sobre el sonrojo de los frutos, no lo haría sobre la firmeza, al menos en las condiciones de la región estudiada,

corroborándose la tercera hipótesis planteada. Los cambios observados en la firmeza y la pared celular de peras Bartlett expuestas a diferentes niveles de radiación, correspondieron principalmente a diferencias en la temperatura y la radiación visible recibida por los frutos y las hojas circundantes durante su desarrollo y no así a la radiación UVB.

Posteriormente, se pudo determinar que el grado de exposición solar de los frutos en precosecha, es uno de los factores que influye en la variabilidad de la respuesta que se observa en aplicaciones comerciales del inhibidor de la acción del etileno 1-MCP en poscosecha. Las mejores respuestas se observaron en los frutos provenientes de posiciones soleadas dentro de la copa del árbol, demostrándose la cuarta hipótesis que planteaba que la exposición solar en precosecha aumenta marcadamente la efectividad de los tratamientos poscosecha con 1-MCP en peras Bartlett.

Más allá de la pérdida de firmeza de los frutos, existen muchas otras alteraciones texturales de importancia como la harinosidad o la falta de jugo, desorden textural que se manifiesta en estas peras cuando los frutos permanecen en el árbol más allá de la ventana óptima de cosecha. Debido a ello, en el presente trabajo de tesis, se estudiaron algunos aspectos determinantes de éste desorden. Una caracterización inicial permitió confirmar que la permanencia de los frutos de pera Bartlett en el árbol por períodos prolongados provocó una reducción del contenido de jugo libre. Más allá de la evaluación de los niveles de jugo extraíble en laboratorio observadas en este estudio, también se determinó que es posible detectar la pérdida de jugosidad mediante análisis sensorial, sugiriendo que más allá de tratarse de un problema de interés desde un punto de vista básico, es un fenómeno que puede reducir la calidad sensorial de los frutos. Si bien algunos estudios previos indican que la alteración en la madurez normal en frutos mantenidos en el árbol podría asociarse con una reducción en la producción de etileno,

en este trabajo se observó que la falta de jugo puede desarrollarse aún cuando la producción de ésta hormona es elevada.

Dado que la alteración en la jugosidad ha sido asociada a modificaciones en la pared celular, se decidió evaluar en detalle las variaciones producidas en las pectinas y los glicanos entrelazantes durante la maduración de los frutos en árbol. De ese modo, se asoció la pérdida de jugosidad de peras Bartlett maduras en el árbol por períodos prolongados con una serie de cambios inusuales en la degradación de la pared celular, dentro de los que se destaca principalmente la insolubilización y la falta de despolimerización de pectinas. Se corroboró la primera hipótesis planteada en este trabajo, ya que los frutos que maduraron en planta presentaron cambios en la pared celular que se asociaron a anomalías en el desarrollo de la textura característica de la variedad estudiada.

A fin de determinar si la alteración en el metabolismo de pectinas identificada en la pulpa de frutos madurados en árbol se observaba también en la piel, se estudió el metabolismo de pared en esta zona de los frutos. Los resultados indicaron que existen marcadas diferencias en la composición de las paredes celulares de la piel y pulpa de peras Bartlett; la más destacada fue una menor proporción de pectinas y una menor ramificación de estos compuestos, ya en estados tempranos de desarrollo. Esto podría contribuir a explicar por qué la insolubilización de pectinas observada en la pulpa de frutos cosechados en estado de madurez tardío no se observa en la piel.

Los resultados de la presente tesis contribuyeron a profundizar el conocimiento acerca del metabolismo de pared celular de peras cv. Bartlett, analizar el rol del momento de cosecha sobre el desarrollo de desórdenes texturales y de la posición en el

canopeo en el ablandamiento y variabilidad de respuesta al 1-MCP de la variedad de peras más importante en la producción y la exportación de nuestro país.

A partir de los hallazgos de este trabajo surgen algunos nuevos interrogantes a los que resultaría de interés dar respuesta en futuros estudios:

1) A partir del estudio del efecto de la posición en el canopeo sobre la firmeza, resulta claro que los frutos poseen una plasticidad en la estructura de sus paredes celulares. En qué medida esta plasticidad es regulada (ej biosíntesis, deposición, ensamblaje, estructura química) se desconoce. Estudios en esa dirección serían de interés para aumentar la comprensión de la fisiología de frutos, en particular y del crecimiento y desarrollo vegetal en general.

2) Dado que se observó un efecto de la radiación sobre la textura de los frutos resultaría de interés determinar, mediante ensayos en los que se realice el sombreado de hojas o frutos en forma independiente, si esto es por acción directa de la menor radiación interceptada por los frutos, por una respuesta indirecta debida a la disminución de la luz recibida por las hojas o por una combinación de ambos procesos.

3) Con relación al estudio de la influencia de las condiciones de cultivo en la eficacia de los tratamientos poscosecha, en este trabajo se observó claramente que la respuesta al inhibidor de la acción del etileno 1-MCP puede variar en función de posición en el canopeo de los frutos. Si bien desde el punto de vista práctico debiera orientarse el manejo del monte (al igual que para otros atributos de calidad) para tener frutos bien expuestos, la identificación clara e inequívoca de todos los factores que determinan la

variación de calidad dentro de los frutos y entre frutos de un mismo lote, es de suma importancia para la industria, y amerita atención.

4) Dado que la pérdida de jugosidad de peras se asocia con la reducción en la solubilidad en las pectinas más que en los glicanos de entrecruzamiento, resultaría valioso determinar las modificaciones en la actividad de enzimas y expresión de genes asociados con el metabolismo de poliuronidos. Esto permitiría avanzar en la comprensión de los procesos que provocan en los frutos la pérdida de jugo. En esta temática y desde el punto de vista de la industria resultaría valioso avanzar en el desarrollo de métodos instrumentales no destructivos y con valor predictivo, que permitiesen detectar potenciales alteraciones en la jugosidad antes de la comercialización y minimizar la venta de frutos defectuosos.

5) Desde una visión más tecnológica queda claro que el retraso en la cosecha puede afectar las propiedades sensoriales de los frutos. Ahora bien resultaría de sumo interés elucidar cuál es el tiempo máximo que los frutos pueden permanecer in planta sin que aparezca este problema de falta de jugosidad al llegar a la madurez de consumo, así como identificar otros factores predisponentes para este desorden.

BIBLIOGRAFÍA

- Abeles, F.B., Morgan, P.W., Saltveit, M. E. 1992. Ethylene in Plant Biology, 2 ed. Academic Press, San Diego, California, USA. 414 pp.
- Agar, I.T., Biasi, W.V., Mitcham, E.J. 1999. Exogenous ethylene accelerates ripening responses in 'Bartlett' pears regardless of maturity or growing region. *Postharvest Biol. Technol.* 17, 67-78.
- Agar, L.T., Biasi, W.V., Mitcham, E.J. 2000. Cold storage duration influences ethylene biosynthesis and ripening of Bartlett pears. *HortScience* 35, 687-690.
- Ahmed, A.E.R., Labavitch, J.M. 1997. A simplified method for accurate determinations of cell wall uronide content. *J. Food Biochem.* 1, 361-365.
- Ahmed, A.E.R., Labavitch, J.M., 1980. Cell wall metabolism in ripening fruit. I. Cell wall changes in ripening 'Bartlett' pears. *Plant. Physiol.* 65, 1009-1013.
- Alexander, L., Grierson, D. 2002. Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. *J. Exp. Bot.* 53, 2039-2055.
- 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.
- Awad, M.A., Wagenmakers, P.S., de Jager, A. 2001. Effects of light on flavonoid and chlorogenic acid levels in the skin of 'Jonagold' apples. *Sci. Hort.* 88, 289-298.
- Bai, J., Mattheis, J.P., Reed, N. 2006. Re-initiating softening ability of 1-methylcyclopropene-treated 'Bartlett' and 'd'Anjou' pears after regular air or controlled atmosphere storage. *J.Hort. Sci.& Biotech.* 81, 959-964.
- Ballinger, W.E., Kushman, L.J., Hamann, D.D. 1973. Factors affecting the firmness of highbush blueberries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 98, 583-587.
- Barden, J.A., 1974. Net photosynthesis, dark respiration, specific leaf weight and growth of young apple trees as influenced by light regimes. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 99, 547-551.
- Barden, J.A. 1977. Apple tree growth, net photosynthesis, dark respiration, and specific leaf weight as affected by continuous and intermittent shade. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 102, 391-394.
- Baritelle, A.L., Hyde, G.M., Fellman J.K., Varith, J. 2001. Using 1-MCP to inhibit the influence of ripening on impact properties of pear and apple tissue. *Postharvest Biol. Technol.* 23, 153-160.

- Barka, E.A., Kalantari, S., Makhlof, J., Arul, J. 2000. Impact of UV-C irradiation on the cell wall-degrading enzymes during ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruit. *J. Agric. Food Chem.* 48, 667-671.
- Baron-Epel, O., Gharyal, P.K., Schlinder, M. 1988. Pectins as mediators of wall porosity in soybean cells. *Planta.* 175, 389-395.
- Batisse, C., Buret, M., Coulomb, P.J. 1996. Biochemical differences in cell wall of cherry fruit between soft and crisp fruit. *J. Agric. Food Chem.* 44, 453-457.
- Ben-Arie, R., Sonogo, L., Frenkel, C. 1979. Changes in pectic substances in ripening pears. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 104, 500-505.
- Benítez, C.E. 2001. Cosecha y poscosecha de peras y manzanas en los valles irrigados de la Patagonia. General Roca, Río Negro. INTA EEA Alto Valle. 126 pp.
- Benítez, C., Duprat, F., Grotte, M., Insúa, E. 1993. Evaluation of the pear and apple quality versus their position on the tree. Improvement of Horticultural Crops, Held Jointly with The Peach Congress. China Agricultural Sciencetech Press. Beijing, China.
- Biggs, M.S., Woodson, W.R., Handa, A.K. 1988. Biochemical basis of high temperature inhibition of ethylene biosynthesis in ripening tomato fruits. *Physiol. Plant.* 72, 572-578
- Blakeney A.B., Harris, P.J., Henry, R.J., Stone, B.A. 1983. A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydr. Res.* 113, 291-299
- Blankenship, S.M., 1987. Night-temperature effects on the rate of apple fruit maturation and fruit quality. *Sci. Hort.* 33, 205-212.
- Blankenship, S.M., Dole, J.M. 2003. 1-Methylcyclopropene: a review. *Postharvest Biol. Technol.* 28, 1-25.
- Blanpied, G.D., Bramlage, W.J., Dewey, D. H., LaBelle, R.L., Massey, L.M., Mattus, G.E., Stiles, W.C., Watada, A.E. 1978. A standardized method for collecting apple pressure test data. *New York's Food and Life Sciences Bulletin*, 74.
- Blumenkrantz, N., Asboe-Hansen, G. 1973. "New method for quantitative determination of uronic acids". *Anal. Biochem.* 54, 484-489.
- Bosiouny, F.M. 1998. Effects of UV-B irradiance on storability on quality of blackberry. *Proc. Fla. State. Hort. Soc.* 111, 283-285.
- Bourne, M.C. 1980. Texture evaluation of horticultural crops. *HortScience* 15, 51-56.

- Brett, C.T., Waldron K.W. 1996. *Physiology and Biochemistry of Plant Cell Walls*. Chapman and Hall, London, 255 pp.
- Brodl, M.R. 1990. Biochemistry of heat shock responses in plants. En: Frank Katterman (ed.), *Environmental Injury to Plants*. Academic Press, San Diego, California, USA, 290pp.
- Brooks, C., Fisher, D.F. 1926. Some high temperature effects in apples: contrasts in the two sides of an apple. *J. Agric. Res.* 23, 1-16.
- Brummell, D.A., Labavitch, J.M. 1997. Effect of antisense suppression of endopolygalacturonase activity on polyuronide molecular weight in ripening tomato fruit and in fruit homogenates. *Plant Physiol.* 115, 717-725.
- Brummell, D.A., Harpster, M.H. 2001. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. *Plant Mol. Biol.* 47, 311-340.
- Brummell, D.A., Dal Cin, V., Crisosto, C.H., Labavitch, J.M. 2004. Cell wall metabolism during maturation, ripening and senescence of peach fruit. *J. Exp. Bot.* 55, 2029-2039.
- Brummell, D.A. 2006. Cell wall disassembly in ripening fruit. *Funct. Plant Biol.* 33, 103-119.
- Burnside, C.A., Bhöning, R.H. 1957. The effect of prolonged shading on the light saturation curves of apparent photosynthesis in sun plants. *Plant Physiol.* 32, 61-63.
- Byers, R.E., Carbough, D.H., Presley, C.N., Wolf, T.K. 1991. The influence of low light on apple fruit abscission. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 66, 7-17.
- Caffall, K.H., Mohnen, D. 2009. The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides. *Carbohydr. Res.* 344, 1879-1900.
- Calvo, G. 2003. Efecto del 1-metilciclopropeno (1-MCP) en peras cv. Williams cosechadas con dos estados de madurez. *RIA* 33, 1-24.
- Calvo, G., Sozzi G.O. 2004. Improvement of postharvest storage quality of Red Clapps pears by treatments with 1-methylcyclopropene at low temperatura. *J. Hort. Sci. & Biotech.* 79, 930-934.
- Calvo, G. 2008. Impacto del 1-metilciclopropeno en cultivares de peras tempranas producidas en el Alto Valle de Río Negro. Tesis Ms.Sci. Producción Vegetal. EPG Alberto Soriano, UBA. 115pp.
- Campbell, J., Marini, R. 1992. Light environment and time of harvest affect Delicious apple fruit quality characteristics. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 117, 551-557.

- 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, 437-443.
- Carpita, N.C., Gibeaut, D.M. 1993. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant J.* 3, 1-30.
- Carpita, N.C., MacCann, M.C. 2000. The cell wall. En "Biochemistry and molecular biology of plants". Eds. BB Buchanan, W. Gruissem, R.L. Jones. Pp. 52-108.
- Chen, P.M., Mellenthin, W.M. 1981. Effects of harvest date on ripening capacity and postharvest life of d'Anjou pears. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 106, 38-42.
- Choi, C., Wiersma, P.A., Toivonen, P., Kappel, F. 2002. Fruit growth, firmness and cell wall hydrolytic enzyme activity during development of sweet cherry fruit treated with gibberellic acid (GA3). *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 77, 615-621.
- Cisneros-Zevallos, L. 2003. The use of controlled postharvest abiotic stresses as a tool for enhancing the nutraceutical content and adding-value of fresh fruits and vegetables. *J. Food Sci.* 68, 1560-1565.
- Civello, P.M., Martinez, G.A., Chaves, A.R., Añon, M.C. 1997. Heat treatment delay ripening and postharvest decay of strawberry fruit. *J. Agric. Food. Chem.* 45, 4589-4594.
- Civille, G., Szczesniak, A. 1973. Guideline to training a texture profile panel. *J. Text Stud.* 4, 204-223.
- Cowart, F.F. 1935. Apple leaf structure as related to position of the leaf upon the shoot and type of growth. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 33, 145-148.
- Crippen, D.D., Morrison, J.C. 1986. The effects of sun exposure on the compositional development of 'Cabernet Sauvignon' berries. *Am. J. Enol. Vitic.* 37, 235-242.
- Crisosto, C.H., Mitchell, F.G., Johnson, S. 1995. Factors in flesh market stone fruit quality. *Postharv. News Info.* 6, 17-21.
- Crisosto, C.H., Scott, R., Johnson, S., DeJong, T. 1997. Orchard factors affecting postharvest Stone fruit quality. *HortScience.* 32, 820-823.
- Crisosto, C.H., Labavitch, J.M. 2002. Developing a quantitative method to evaluate peach (*Prunus persica*) flesh mealiness. *Postharvest Biol. Technol.* 25, 151-158.
- Cosgrove, D.J. 2001. Wall structure and wall loosening. A look backwards and forwards. *Plant Physiol.* 125, 131-134.

- CTIFL, 2002. Starch conversion chart for fruits. CTIFL. Paris, Francia, 4 pp.
- Darvill, J.E., McNeil, M., Darvill, A.G., Albersheim, P. 1980. Structure of plant cell walls. XI. Glucuronoarabinoxylan, a second hemicellulose in the primary cell walls of suspension-cultured sycamore cells. *Plant Physiol.* 66, 1135-1139.
- Dawson, D.M., Melton, L.D., Watkins, C.B. 1992. Cell wall changes in nectarines (*Prunus persica*) solubilization and depolymerization of pectic and neutral polymers during ripening and in mealy fruits. *Plant Physiol.* 100, 1203-1210.
- De Wild, H.P.J., Woltering, E.J., Peppelenbos, H.W. 1999. Carbon dioxide and 1-MCP inhibit ethylene production and respiration of pear fruit by different mechanisms. *J. Exp. Bot.* 50, 837-844.
- Dick, J.A., Labavitch, J.M. 1989. Cell wall metabolism in ripening fruit. IV. Characterization of the pectic polysaccharides solubilized during softening of 'Bartlett' pear fruit. *Plant Physiol.* 89, 1394-1400.
- Dinar, M., Rudich, J. 1985. Effect of heat stress on assimilate partitioning in tomato. *Ann. Bot.* 56, 239-248.
- Doods, G.T., Trenholm, L., Tajabipour, A., Madramotoo, C. A., Norris, E.R. 1997. Yield and quality of tomato fruit under water-table management. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 122, 491-498.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J. K., Dekers, P.A., Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28, 350-356.
- 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 Biol. Technol.* 31, 127-136.
- Ellis, C., Karafyllidis, L., Turner, J.G. 2002. Constitutive activation of jasmonate signaling in an *Arabidopsis* mutant correlates with enhanced resistance to *Erysiphe cichoracearum*, *Pseudomonas syringae*, and *Myzus persicae*. *Mol. Plant. Micr.. Int.* 15, 1025-1030.
- FAOSTAT, 2011. FAO Statistics division. <http://faostat.fao.org>.
- Faust, M. 1989. Physiology of temperate zone fruit trees. John Wiley & Sons, New York, USA. 338 pp.
- Ferguson, I.B., Watkins, C.B. 1989. Bitter pit in apple fruit. *Hortic. Rev.* 11, 289-355.
- Ferguson, I., Snelgar, W., Lay-Yee, M., Watkins, C.B., Bowen, J.H. 1998. Heat shock response in apple fruit in the field. *Aust. J. Plant. Physiol.* 25, 155-163.

- Ferguson, I.B., Volz, R., Woolf, A. 1999. Preharvest factors affecting physiological disorders of fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 255-262.
- Filisetti-Cozzi, T.M.C.C., Carpita, N.C. 1991. Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. *Anal. Biochem.* 197, 157-162.
- Filder, J.C., Wilkinson, B.G., Edney, K.L., Sharples, R.O. 1973. The biology of apple and pear storage. Commonwealth. Bur. Horticultural Plant Crops, East Malling, Kent. Res. Rev. 3.
- Fisher, R.L., Bennett, A.B. 1991. Role of cell wall hydrolases in fruit ripening. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42, 675-703.
- Flore, J.A., Lakso, A.N. 1989. Environmental on physiological regulation of photosynthesis in fruit crop. *Hort. Rev.* 11, 111-157.
- Flores, F., Ben Amor, M., Jones, B., Pech, J.C., Bouzayen, M., Latche, A., Romojaro, F. 2001. The use of ethylene-suppressed lines to assess differential sensitivity to ethylene of the various ripening pathways in Cantaloupe melons. *Physiol Plant* 113, 128–133.
- Fonseca, S., Monteiro, L., Barreiro, M.G., Pais, M.S. 2005. Expression of genes encoding cell wall modifying enzymes is induced by cold storage and reflects the changes in pears fruit texture. *J. Exp. Bot.* 56, 2029-2039.
- Frohnmeier, H., Staiger, D. 2003. Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. *Plant Physiol.* 133, 1420-1428.
- FunBaPa, 2012. Anuario estadístico de egresos de frutales de pepita, de la fundación Barrera Zoofitosanitaria de la Patagonia. Argentina. <http://www.funbapa.org.ar/statistique.htm>.
- Galviz-Sánchez, A.C., Fonseca, S.C. Morais, A.M.M.B., Malacata, F.X. 2004. Effects of preharvest, harvest and postharvest factors on the quality of pears (*cv.* "Rocha") stored under controlled atmosphere conditions. *J. Food Eng.* 64, 161-172.
- Garriz, P.I., Colavita G.M., Alvarez H.L. 1998. Fruit and spur leaf growth and quality as influenced by low irradiance levels in pear. *Sci. Hort.* 77, 195-205.
- Gerasopoulos, D., Richardson, D.G. 1997. Differential propylene induced ethylene production in 'd'Anjou' pears during storage at chilling and non-chilling temperatures. *J. Hort. Sci.* 72, 571-575.

- Gerasopoulos, D., Drogoudi, P. 2005. Summer pruning and preharvest calcium chloride sprays affect storability and low temperature breakdown incidence in kiwifruit. *Postharvest Biol. Technol.* 36, 303–308.
- Giovannoni, J. 2004. Genetic regulation of fruit development and ripening. *Plant Cell.* 16, 170-180.
- Gomila, T., Calvo, G., Candan, A.P. 2011. Relationship between maturity index and ethylene production patterns of William's pears grown in the Alto Valle of Río Negro. *Acta Hort.* 909, 745-750.
- Grignone, C., Sentenac, H. 1991. pH and ionic conditions in the apoplast. *Annu. Rev. Plant Biol Plant Mol. Biol.* 42, 103-128.
- Gross K.C., Sams, C.E. 1984. Change in cell wall neutral sugar composition during fruit ripening: a species survey. *Phytochem.* 23, 2457-2461.
- Haji, T., Yaegaki, H., Yamaguchi, M. 2003. Softening of stony hard peach by ethylene and the induction of endogenous ethylene by 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC). *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 72, 212–217.
- Hallett, I.C., MacRae E.A., Wegrzyn T.F. 1992. Changes in kiwifruit cell wall ultrastructure and cell packing during postharvest ripening. *Int. J. Plant Sci.* 153, 49-60.
- Harker, F.R., Redgwell, R.J., Hallett, I.C., Murray, S.H. 1997. Texture of fresh fruit. *Hort. Rev.* 20, 121-224.
- Harpster, M.H., Brummell, D.A., Dunsmuir, P. 2002. Suppression of a ripening-related endo-1,4- β -glucanase in transgenic pepper fruit does not prevent depolymerization of cell wall polysaccharides during ripening. *Plant Mol. Biol.* 50, 345-355.
- Hartmann, H. 1925. The control of core breakdown in pears. Oregon State University Agricultural Experiment Station Bulletin 216.
- Hiwasa K, Kinugasa, Y., Amano, S., Hashimoto, A., Nakano, R., Inaba, A., Kubo, Y. 2003. Ethylene is required for both the initiation and progression of softening in pear (*Pyrus communis* L.) fruit. *J Exp. Bot.* 54, 771-779.
- Hiwasa, K., Nakano, R., Hashimoto, A., Matsuzaki, M., Murayama, H., Inaba, A., Kubo, Y. 2004. European, Chinese and Japanese pear fruits exhibit differential softening characteristics during ripening. *J. Exp. Bot.* 55, 2281-2290.

- HersHKovitz, V. Friedman, H., Goldschmidt, E.E., Pesis, E. 2009. The role of the embryo and ethylene in avocado fruit mesocarp discoloration. *J. Exp. Bot.*, 60, 791-799.
- Herrero, H., Guardía, J. 1992. Conservación de frutos. Manual técnico. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España, 409 p.
- Ho, L.C., Belda, R., Brown, M., Andrews, J., Adams, P. 1993. Uptake and transport of calcium and the possible causes of blossom-end rot in tomato. *J. Exp. Bot.* 44, 509-518.
- Hopp, R. 1947. Internal temperatures of plants. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 50, 103–108.
- Huang, C., Yu, B., Teng, Y., Su, J., Shu, Q., Cheng, Z., Zeng, L. 2009. Effects of fruit bagging on coloring and related physiology, and qualities of red Chinese sand pears during fruit maturation. *Scie. Hort.* 121, 149-158.
- Huber, D.J., O'Donoghue, E.M. 1993. Polyuronides in avocado (*Persea americana*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*) fruits exhibit markedly different patterns of molecular weight downshift during ripening. *Plant Physiol.* 102, 473-480.
- Inaba, M., Crandall, P.G. 1988. Electrolyte leakage as an indicator of high-temperature injury to harvested mature green tomatoes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 113, 96-99.
- Infostat, 2007. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- IRAM. 20013. 2001. Instituto Nacional de Racionalización de Materiales.
- Jackson, J.E., Palmer, J.W. 1977. Seasonal light interception and canopy development in hedgerow and bed system apple orchard. *J. Appl. Ecol.* 14, 539-549.
- Jermyn, M.A., Isherwood, F.A. 1956. Changes in the cell wall of the pear during ripening. *Biochem. J.* 64, 123-132.
- Jiménez-Bermúdez S., Redondo-Nevado, J., Muñoz-Blanco, J., Cavallero, J.L., López-Aranda, J.M., Valpuesta, V., Pliego-Alfaro, F., Quesada, M.A., Mercado, J.A. 2002. Manipulation of strawberry fruit softening by antisense expression of a pectate lyase gene. *Plant Physiol.* 128, 751-759.
- Kader, A. A., Heintz C. M., Chordas, A. 1982. Postharvest quality of fresh and canned clingstone peaches as influenced by genotypes and maturity at harvest. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 107, 947-951.
- Kader, A.A. 1999. Fruit maturity, ripening, and quality relationships. *Acta Hort.* 485, 203-208.

- Kader, A.A. 2002. Postharvest technology of horticultural crops. University of California. Agricultural and Natural resources. Richmond. ISBN, 13:978-60107-743-1. 519 pp.
- Karkalas, J.J. 1985. An improved enzymic method for the determination of native and modified starch. *J. Sci. Food Agric.* 36, 1019-1027.
- Kays, S.J. 1999. Preharvest factors affecting appearance. *Postharvest Biol. Technol.*, 15, 233-247.
- Keegstra K., Talmadge, K.W., Bauer, W.D., Albersheim, P. 1973. The structure of plant cell wall III. A model of the walls of suspension-cultures cycamore cells based on the interconnections of macromolecular components. *Plant Physiol.* 51, 188-197.
- Kinay, P., Yildiz, F., Sen, F., Yildiz, M., Karacali, I. 2005. Integration of pre- and postharvest treatments to minimize *Penicillium* decay of Satsuma mandarins. *Postharvest Biol. Technol.* 37, 31-36.
- King, G.J., Maliepaard, C., Lynn, J.R., Alston, F.H., Durel, C.E., Evans, K.M., Griffon, B., Laurens, F., Manganaris, A.G., Schrevers, E., Tartarini, S. 2000. Quantitative genetic analysis and comparison of physical and sensory descriptors relating to fruit flesh firmness in apple (*Malus pumila* Mill.). *Theor & Appl. Gen.* 100, 1074–1084.
- Kingston, C.M. 1992. Maturity indices for apple and pear. *Hort. Rev.* 13, 407-432.
- Kliewer, M.W., Lider, L.A. 1970. Effects of day temperature and light intensity on growth and composition of *Vitis vinifera* L. fruits. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 95, 766–769.
- Kliewer, W.M., Smart, R.E. 1989. Canopy manipulation for optimizing vine microclimate, crop yield, and composition of grapes, In: C.J. Wright (ed.). *Manipulation of Fruiting*. Butterworth, London. p. 275–291
- Klueva, N., Maestri, E., Marmioli, N., Nguyen, H. 2001. Mechanism of thermo tolerance in crops. En: Basra, A. (Ed.), *Crops Responses and Adaptations to Temperature Stress*. Food Products Press, Binghamton, NY, pp. 177-218.
- Knapp, A.K., Smith, W.K., 1990. Stomatal photosynthetic responses to variable sunlight. *Physiol. Plant.* 78, 160-165.
- Knee, M.T., Smith, S.M. 1989. Variation in quality of apple fruits stored after harvest on different dates. *J. Hort. Sci.* 64, 413-419.

- Kondo, S., Takano, Y. 2000. Cell wall metabolism and induction of ripening capacity in La France pears as influenced by 2,4-DP. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 125, 242-247.
- Konopacka, D., Plochanski, W.J. 2004. Effect of storage conditions on the relationship between apple firmness and texture acceptability. *Postharvest Biol. Technol.* 32, 205-211.
- Lakso, A. 1984. Leaf area development patterns in young pruned and unpruned apple trees. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 109, 861-865.
- Lammertyn, J., De Ketelaere, B., Marquenie, D., Molenberghs, G., Nicolai, B.M. 2003. Mixed models for multicategorical repeated response: modelling the time effect of physical treatments on strawberry sepal quality. *Postharvest Biol. Technol.* 30, 195-207.
- Lauri, P.E., Lespinasse, J.M., Delort, F., T  rouanne, E., Rodr  guez, R.O. 1996. Analyse des branches fruiti  res et r  gularit   de fructification. *Fruit et L  gumes* 147, 26-28.
- Lauri, P.E., Lespinasse, J.M. Fouilhaux, L. 1997. Vers un meilleur contr  le de la fructification. *L'Arboriculture Fruiti  re* 510, 37-42.
- Lauri, P.E., Williaume, M., Larrive, G., Lespinasse, J. 2004. The concept of centrifugal training in apple aimed at optimizing the relationship between growth and fruiting. *Acta Hort.* 636, 35-42.
- Lee, S.K., Kader, A.A. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biol. Technol.* 20, 207-220.
- Leli  vre, J.M., Tichit, L., Dao, P., Fillion, L., Nam, Y.W., Pech, J.C., Latch  , A. 1997. Effects of chilling on the expression of ethylene biosynthetic genes in Passe-Crassane pear (*Pyrus communis* L.) fruits. *Plant Mol. Biol.* 33, 847-55.
- Lewallen, K.S., Marini, R.P. 2003. Relationship between flesh firmness and ground color in peach as influenced by light and canopy position. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 128, 163-170.
- Li, X. J., Hou, J.H., Zhang, G.L., Liu, R.S., Yang, Y.G., Hu, Y.X., Lin, J.X. 2004. Comparison of anthocyanin accumulation and morpho-anatomical features in apple skin during color formation at two habitats. *Sci. Hort.* 99, 41-53.
- Liu, X.D., Thiele, D.J. 1996. Oxidative stress induces heat shock factor phosphorylation and HSF-dependent activation of yeast metallothionein gene transcription. *Genes Dev.* 10, 592-603.

- Logemann, E., Tavernaro, A., Schulz, W., Somssich, I.E., Hahlbrock, K. 2000. UV light selectively coinduces supply pathways from primary metabolism and flavonoid secondary product formation in parsley. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97, 1903-1907.
- López-Rubira, V., Conesa, A., Allende, A., Artés, F. 2005. Shelf life and overall quality of minimally processed pomegranate arils modified atmosphere packaged and treated with UV-C. *Postharvest Biol. Technol.* 37, 174-185.
- Lu, J.Y., Stevens, C., Khan, V.A., Kabwe, M., Wilson, C.L. 1991. The effect of ultraviolet irradiation on shelf-life and ripening of peaches and apples. *J. Food Qual.* 14, 299-305.
- Lurie, S., Pesis, E., Ben-Arie, R. 1991. Darkening of sunscald on apples in storage is a non-enzymatic and non-oxidative process. *Postharvest Biol. Technol.* 1, 119-125.
- Lurie, S., Handros, A., Fallik, E., Shapira, R. 1996. Reversible inhibition of tomato fruit gene expression at high temperature. *Plant Physiol.* 110, 1207-1214.
- Lutz, C., Navakoudis, E., Seidlitz, H.K., Kotzabasis, K. 2005. Simulated solar irradiation with enhanced UV-B adjust plastid- and thylakoid-associated polyamine changes for UV-B protection. *Biochem. Biophys Acta* 1710, 24–33.
- Maharaj, R., Arul, J., Nadeau, P. 1999. Effect of photochemical treatment in the preservation of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Capello) by delaying senescence. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 13-23.
- 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. *J. Agric. Food Chem.* 55, 7015–7020.
- Marini, R., Barden, J. 1982. Light penetration on overcast and clear days, and specific leaf weight in apple trees as affected by summer or dormant pruning. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 107, 39-43.
- Marquenie, D.C., Michiels, W., Van Impe, J.F., Schrevers, E., Nicolaï, B.N. 2003. Pulsed white light in combination with UV-C and heat to reduce storage rot of strawberry. *Postharvest Biol. Technol.* 28, 455-461.
- Martin-Cabrejas, M.A., Waldron, K.W., Selvendran, R.R., Parker, M.L., Moates, G.K. 1994. Ripening-related changes in the cell walls of Spanish pear (*Pyrus communis*). *Physiol. Plant.* 91, 671-679.

- Mattheis J. P., Fellman, J.K. 1999. Preharvest factors influencing flavor of fresh fruit and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 227-232.
- Matus, J.T., Loyola, R., Vega, A., Peña-Neira, A., Bordeu, E., Arce-Johnson, P., Alcalde, J.A. 2009. Post-veraison sunlight exposure induces MYB-mediated transcriptional regulation of anthocyanin and flavonol synthesis in berry skins of *Vitis vinifera*. *J. Exp. Bot.* 60, 853-867.
- McDuffee, A.T., Senisterra, G., Huntley, S., Lepock, J.R., Sekhar, K.R., Meredith, M.J., Borrelli, M.J., Morrow, J.D., Freeman, M.L. 1997. Proteins containing non-native disulfide bonds generated by oxidative stress can act as signals for the induction of the heat shock response. *J. Cell. Physiol.* 171, 143–151.
- Mellenthin W.M., Wang, C.Y. 1976. Preharvest temperatures in relation to postharvest quality of d'Anjou pears. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 101, 302-305.
- Merzlyak, M.N., Solovchenko, A.E., Chivkunova, O.B. 2002. Patters of pigment changes in apple fruits during adaptations to high sunlight and sunscald development. *Plant. Physiol. Biochem.* 40, 679-684.
- Mitcham, E.J., Crisosto, C.H., Kader, A.A. 2012. Pera: Bartlet: Recomendaciones para Mantener la Calidad Postcosecha. En: http://postharvest.ucdavis.edu/frutasymelones/Pera_Bartlet/. Visitado Abr. 2012.
- Mitchell, F.G. 1990. Postharvest biology and technology of European pears. In: Pear production manual. Department of Pomology, University of California Davis, Davis, CA.
- Morgan, R.W., Christman, M.F., Jacobson, F.S., Storz, G., Ames, B.N. 1986. Hydrogen peroxide-inducible proteins in *Salmonella typhimurium* overlap with heat shock and other stress proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83, 8059-8063.
- Moya, M.A., Vergara, M., Bravo, C., Montes, M.E, Moggia, C. 2006. 1-MCP treatment preserves aroma quality of 'Packham's Triumph' pears during long-term storage. *Postharvest Biol. Technol.* 42, 185-197.
- Murayama, H., Takahashi, T., Honda R., Fukushima, T. 1998. Cell wall changes in pear fruit softening on and off the tree. *Postharvest Biol. Technol.* 14, 143-149.
- Murayama, H., Katsumata, T., Horiuchi, O., Fukushima, T. 2002. Relationship between fruit softening and cell wall polysaccharides in pear fruit after different storage periods. *Postharvest Biol. Technol.* 26, 15-21.

- Murayama, H., Sekine, D., Yamauchi, Y., Gao, M., Mitsuhashi, W., Toyomasu, T. 2006. Effect of girdling above the abscission zone of fruit on 'Bartlett' pear ripening on the tree. *J. Exp. Bot.* 57, 3679-3686.
- Murayama, H., Katsumata, T., Endou, H., Fukushima, T., Sakurai, N. 2006. Effect of storage period on the molecular-mass distribution profile of pectic and hemicellulosic polysaccharides in pears. *Postharvest Biol. Technol.* 40, 141-148.
- Murray, X.J., Holcroft, D.M., Cook, N.C., Wand, S.J.E. 2005. Postharvest quality of "Laetia" and "Songold" (*Prunus salicina* Lindell) plums as affected by preharvest shading treatments. *Postharvest Biol. Technol.* 37, 81-92.
- Nielsen, E., Oreit, J. (eds.). 1996. *Physiology of plants under stress*. John Wiley & Sons, New York, USA, 698 pp.
- Nigro, F., Ippolito, A., Lima, G. 1998. Use of UV-C light to reduce *Botrytis* storage rot of table grapes. *Postharvest Biol. Technol.* 13, 171-181.
- Nover, L., Scharf, K.D., Neumann, D. 1989. Cytoplasmic heat shock granules are formed from precursor particles and are associated with a specific set of mRNAs. *Mol Cell Biol.* 9, 1298-1308.
- Nover, L. (Ed.) 1991. *Heat Shock Response*. CRC Press, Boca Ratón (Fd).
- Nunes, M. C. D. N. 2008. Impact of environmental conditions on fruit and vegetable quality. *Stewart Postharvest Rev.* 4, 1-14.
- Oechslin, R., Lutz, M.V., Amado, R. 2003. Pectic substances isolated from Apple cellulosic residue: structural characterization of a new type of rhamnogalacturonan I. *Carbohydr. Pol.* 51, 301-310.0
- O'Neil, M.A., Warrenfeltz, D., Kates, K., Pellerin, P., Doci, T., Darvill, A.G., Albersheim, P. 1996. Rhamnogalacturonan II, a pectic polysaccharide in the wall of growing plants cells, forms a dimer that is covalently-linked by borate ester. *J. Biol. Chem.* 271, 22926-22939.
- Opara, L.U., Studman, C.J., Banks, N.H. 1997. Sunlight affects the incidence of internal-ring cracking and other physical attributes of "Gala" apples. *J. Tree Fruit Prod.* 2, 45-52.
- Opara, L.U., Tadesse, T. 2000. Fruit growth characteristics and chronological development of calyx-end splitting in Pacific Rose apples. *J. Amer. Pomolog. Soc.* 3, 153-158.
- Ourecky, D.K., Bourne, M.C. 1968. Measurement of strawberry texture with an Instron Machine. *Proc. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 93, 317-325.

- Parchomchuk, P., Meheriuk, M., 1996. Orchard cooling with pulsed overtree irrigation to prevent solar injury and improve fruit quality of 'Jonagold' apples. *HortScience* 31, 802–804.
- Peña, M.J., Carpita, N. 2004. Loss of high branched arabinans and debranching of rhamnogalacturonan I accompany loss of firm texture and cell separation during prolonged storage of apple. *Plant Physiol.* 135, 1305-1313.
- Pesis, E., Ackerman, M., Ben-Aire, R., Feygenberg, O., Feng, X., Apelbaum, A., Goren, R., Pruski, D. 2002. Ethylene involvement in chilling injury symptoms of avocado during cold storage. *Postharvest Biol. Technol.* 24, 171-181.
- Picton, S., Grierson, D. 1988. Inhibition of expression of tomato ripening genes at high temperature. *Plant Cell Environ.* 11, 265-272.
- Ponce, N.M.A., Ziegler, V.H., Stortz, C.A., Sozzi, G.O. 2010. Compositional changes in cell wall polysaccharides from Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) during growth and on-tree ripening. *J. Agric. Food Chem.* 58, 2562–2570.
- Popper, Z.A., Fry, S.C. 2005. Widespread occurrence of a covalent linkage between xyloglucan and acidic polysaccharides in suspension-cultured angiosperm cells. *Ann. Bot.* 96, 91–99.
- Proctor, J. T. A., Loughheed, E. C. 1976. The effect of covering apples during development. *HortScience* 11, 108-109.
- Pro Rio Negro. 2010. Pera Williams: Manual para el productor y empacador. Editor Pro Río Negro. 168 p.
- Qiu, Y., Nishina, M.S., Paull, R.E. 1995. Papaya fruit growth, calcium uptake, and fruit ripening. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 120, 246-253.
- Raffo, M.D. Iglesias, N. 2004. Efecto de la intercepción y distribución de la radiación fotosintéticamente activa en manzanos cv. Fuji, bajo cuatro sistemas de conducción en alta densidad. *RIA* 33, 41-54. INTA, Argentina.
- Raffo, M.D. Candan, A.P., De Angelis, V, Mañueco, L., Miranda, M.J. Barda, N. 2011. Sensory evaluation of pears: a useful tool to detect changes during storage. *Acta Hort.* 909, 651-656.
- Reay, P.F., Lancaster, J.E. 2001. Accumulation of anthocyanins and quercetin glycosides in 'Gala' and 'Royal Gala' apple fruit skin with UV-B-Visible irradiation: modifying effects of fruit maturity, fruit side and temperature. *Sci. Hort.* 90, 57-68.

- Redgwell, R.J., Melton, L.D., Brasch, D.J. 1991. Cell wall polysaccharides of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*): effect of ripening on the structural features of cell-wall materials. *Carbohydr. Res.* 209, 191:202.
- Redgwell, R.J., Percy, A.E. 1992. Cell wall changes during on-vine softening of kiwifruit. *New Zeal. J. Crop Hort. Sci.* 20, 453-456.
- Redgwell, R.J., MacRae, E.A., Hallett, I., Fischer, M., Perry, J., Harker, R. 1997a. *In vivo* and *in vitro* swelling of cell wall during fruit ripening. *Planta* 203, 162-173.
- Redgwell, R.J., Fischer, M., Kendall, E., MacRae, E.A. 1997b. Galactose loos and fruit ripening: high molecular-weight arabinogalactans in the pectic polysaccharides of fruit cell walls. *Planta* 203, 174-181.
- Ridley, B.L., O'Neill, M.A., Mohnen, D. 2001. Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochem.* 57, 929-967.
- Reeve, R.M. 1953. Histological investigations of texture in apples II: Structure and inter-cellular spaces. *Food Res.* 18, 604-617.
- Renard, C.M.G.C., Ginies, C. 2009. Comparison of the cell wall composition for flesh and skin from five different plums. *Food Chem.* 114, 1042-1049.
- Robinson, T.L., Seeley, E.J., Barritt, B.H. 1983. Effect of light environment and spur age on 'Delicious' apple fruit size and quality. *J. Amer. Hort. Sci.* 108, 855-861.
- Rodríguez, A., Sánchez E. 2011. Contribution of early season temperatures to *Pyrus communis* Bartlett fruit growth. *Acta Hort.* 909, 657-664.
- Rom, C.R. 1991. Light thresholds for apple tree canopy growth and development. *HortScience* 26, 989-992.
- Rose, J. K.C., Hadfield, K.A, Labavitch, J.M, Benett, A.B., 1998. Temporal sequence of cell wall disassembly in rapidly ripening melon fruit. *Plant Physiol.* 117, 345-361.
- Rudell, D.R., Mattinson, D.S., Fellman, J.K., Mattheis, J.P. 2000. The progression of ethylene production and respiration in the tissues of ripening 'Fuji' apple fruit. *HortScience* 35,1300-1303.
- Rupasinghe, H.P.V., Murr, D.P., Paliyath, G., Skog, L. 2000. Inhibitory effect of 1-MCP on ripening and superficial scald development in 'McIntosh' and 'Delicious' apples. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 75, 271-276.
- Salentijn E.M., Aharoni, A., Schaart, J., Boone, M., Krens, F. 2003. Differential gene expression analysis of strawberry cultivars that differ in fruit firmness. *Physiol. Plantm.* 118, 571-578.

- Salveit, M.E. 1999. Effect of ethylene on quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 279-292.
- Saltveit, M.E. 2003. Is it possible to find an optimal controlled atmosphere? *Postharvest Biol. Technol.* 27, 3-13.
- Sams, C.E. 1999. Preharvest factors affecting postharvest texture. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 249-254.
- Saudreau, M., Marquier, A., Adam, B., Sinoquet, H. 2009. Modelling fruit-temperature dynamics within apple tree crowns using virtual plants. *Ann. Bot.*, 1-10.
- Scheller H.V., Ulvskov, P. 2010. Hemicelluloses. *Annu. Rev. Plant. Biol.* 61, 263-289.
- Schroeder, C.A. 1965. Temperature relationships in fruit under extreme conditions. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 87,199-203.
- Schrader, L.E., Zhang, J., Duplaga, W.K. 2001. Two types of sunburn in apple caused by high fruit surface (peel) temperature. *Plant Health Progress* doi:10.1094/PHP-2001-1004-01-RS.
- Seeley, E.J., Micke, W.C., Kammereck, R. 1980. "Delicious" apple fruit size and quality as influenced by radiant flux density in the immediate growing environment. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 105, 645-657.
- Selvarajah, S., Bauchot, A.D., John, P. 2001. Internal browning in cold-stored pineapples is suppressed by postharvest applications of 1-methylcyclopropene. *Postharvest. Bol. Technol.* 23, 167-170.
- SENASA, 2009. Anuario estadístico. Centro Regional Patagonia Norte del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. www.senasa.gov.ar
- Sexton, R., Palmer, J.M., Whyte, N., Littlejohns, S. 1997. Cellulase, fruit softening and abscission in red raspberry *Rubus idaeus* L. cv Glen Clova. *Ann. Bot.* 80, 371-376.
- Seymour, G.B., Colquhoun, I.J., DuPont, M.S., Parsley, K.R. y Selvendran, R.R. 1990. Composition and structural features of cell wall polysaccharides from tomato fruits. *Phytochem.* 29, 725-731.
- Shackel K.A., Greve, C., Labavitch, J.M., Ahmadi, H. 1991. Cell turgor changes associated with ripening in tomato pericarp tissue. *Plant Physiol.* 97, 814-816.
- Shaw, S.J., Rowe, R.N. 1982. Sources of variability of apple maturity index data. *New Zeal. J. Agric. Sci.* 16, 51-53.
- Shewfelt, R.L. 1986. Postharvest treatment for extending the shelf life of fruits and vegetables. *Food. Technol.* 40, 70-89.

- Sisler, E.C., Serek, M. 1999. Compounds controlling the ethylene receptor. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 40,1-7.
- Sisler, E.C., Serek, M. 2003. Compounds interacting with the ethylene receptor in plants. *Plant Biol.* 5, 473-480.
- Sisler, E.C. 2006. The discovery and development of compounds counteracting ethylene at the receptor level. *Biotechnol. Adv.* 24, 357-367.
- Solovchenko, A.E., Chivkunova, O.B., Gitelson, A.A., Merzliak, M.N. 2006. Non destructive pigment estimation content, ripening, quality and damage in apple fruit spectral reflectance in the visible range. *Flesh Produce*, 4, 91-102.
- Sozzi, G.O., Greve, L.C., Prody, G.A., Labavitch, J.M. 2002. Gibberellic acid, synthetic auxins, and ethylene differentially modulate α -L-arabinofuranosidase activities in antisense 1-aminocyclopropane-1-carboxylic synthase tomato pericarp discs. *Plant Physiol.* 129, 1330-1340.
- Sozzi, G.O. 2004. Strategies for the regulation of postharvest fruit softening by changing cell wall enzyme activity. En: R. Dris & S.M. Jain (eds.), *Production Practices and Quality Assessment of Food Crops, Volume 4: Postharvest Treatment and Technology*. Kluwer Academic Publishers B.V., Dordrecht, The Netherlands, pp. 135-172.
- Sozzi, G.O. Beaudry, R.M. 2007. Current perspective on the use of 1-methylcyclopropene in tree fruit crops: an international survey. *Stewart Posth. Rev.*3, 1-16.
- Steponkus, P.L. 1981. Responses to extreme temperatures – Cellular and subcellular bases. En: O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond, y H. Ziegler, (eds.), *Encyclopedia of Plant Physiology*, Vol. 12A. Springer-Verlag, New York, USA, pp. 71-102.
- Stow, J.R. 1988. The effect of cooling rate and harvest date on stage behavior of “Conference” pears. *J. Hort. Sci.* 63, 59-67.
- Studman, C.J., Brown, G.K., Timm, E.J., Schulte, N.L., Vreede, M.J. 1997. Bruising on blush and non-blush sides of apple-to-apple impacts. *Trans. Amer. Soc. Agric. Eng.* 40, 1655-1663.
- Tadeo, F.R. 2000. Capitulo 30 “Fisiología de la planta y el estrés”. En: *Fundamentos de Fisiología Vegetal*, 2a. edición. Edicions Universitat de Barcelona, Barcelona, pp 522.

- Talbott, L.D., Ray, P.M. 1992. Molecular size and separability features of pea cell wall polysaccharides: implications for models of primary wall structure. *Plant Physiol.* 92, 357-368.
- Terasaki, S., Sakurai, N., Zebrowski, J., Murayama, H., Yamamoto, R., Nevins, D.J. 2006. Laser Doppler vibrometer analysis of changes in elastic properties of ripening 'La France' pears after postharvest storage. *Postharvest Biol. Technol.* 42, 198-207.
- Thomai, T., Sfakiotakis, E., Diamantidis, G., Vasilakakis, M. 1998. Effects of low preharvest temperature on scald susceptibility and biochemical changes in Granny Smith apple peel. *Sci. Hort.* 76, 1-15.
- Thompson, J.F., Brecht, P.E., Hinch, T., Kader, A.A. 2000. Marine container transport of chilled perishable produce. University of California, Agriculture and Natural Resources, Publication 21595. Oakland, CA, USA, 32 pp.
- Thompson, J.E., Fry, S.C. 2000. Evidence for covalent linkage between xyloglucan and acidic pectins in suspension-cultured rose cells. *Planta* 211, 275-286.
- Thompson, D.S. 2005. How do cell walls regulate plant growth? *J. Exp. Bot.* 56, 2275-2285
- Trincherro, G.D., Sozzi, G.O., Covatta, F., Frascina, A.A. 2004. Inhibition of ethylene action by 1-methylcyclopropene extends postharvest life of "Bartlett" pears. *Postharvest Biol. Technol.* 32, 193-204.
- Tustin, S.D., Hirst, P.M., Warrington, I.J. 1988. Influence of orientation and position of fruiting laterals on canopy light penetration, yield, and fruit quality of "Granny Smith" apple. *J. Amer. Hort. Sci.* 113, 693-699.
- Vicente, A.R., Repice, B., Martínez, G.A., Chaves, A.R., Civello, P.M., Sozzi, G.O. 2004. Maintenance of fresh boysenberry fruit quality with UV-C light and heat treatments combined with low storage temperature. *J. Hort. Sci. Biotech.* 79, 246-251.
- Vicente A.R., Pineda, C., Lemoine, L., Civello, P.M., Martinez, G.A., Chaves, A.R. 2005. UV-C treatments reduce decay, retain quality and alleviate chilling injury in pepper. *Postharvest Biol. Technol.* 35, 69-78.
- Vicente, A.R., Ortugno, C., Powell, A.L.T., Greve, L.C., Labavitch, J.M. 2007a. Temporal sequence of cell wall disassembly events in the developing fruits. 1. Analysis of Raspberry (*Rubus idaeus*). *J. Agric. Food Chem.* 55, 4119-4124.

- Vicente, A.R., Ortugno, C., Rosli, H., Powell, A.L.T., Greve, L.C., Labavitch, J.M. 2007b. Temporal sequence of cell wall disassembly events in the developing fruits. 1. Analysis of Blueberry (*Vaccinium* Species). *J. Agric. Food Chem.* 55, 4125-4130.
- Vignon, M.R., Heux, L., Malainine, M.E., Mahrouz, M. 2004. Arabinan–cellulose composite in *Opuntia ficus-indica* prickly pear spines. *Carbohydr. Res.* 339, 123–131.
- Villalobos-Acuña M., Mitcham, E.J. 2008. Ripening of European pears: The chilling dilemma. *Postharvest Biol. Technol.* 49, 187-200.
- Vincken, J.P., Schols, H.A., Oomen, R.J.F.K, McCann, M.C., Ulvskov, P., Voragen, A.G.J., Visser, R.G.F. 2003. If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonane I. Implications for cell wall architecture. *Plant Physiol.* 132, 1781-1789.
- Vogel, J.P., Raab, T.K., Schiff, C., Somerville, S.C. 2002. PMR6, a Pectate lyase–like gene required for powdery mildew susceptibility in Arabidopsis. *Plant Cell* 14, 2095-2106.
- Voragen, A.G.J., Pilnik, W., Thibault, J.F., Axelos, M.A.V., Renard, C.M.G.C. 1995. In: Stephen AM (ed) Food polysaccharides and their applications. Marcel Dekker, New York, 287–339.
- Vorwerk, S., Somerville, S., Somerville, C. 2004. The role of plant cell wall polysaccharide composition in disease resistance. *Trends Plant Sci.* 9, 203-209.
- Wade, N.L., Kavanagh, E.E., Hockley, D.G., Brady, C.J. 1992. Relationship between softening and the polyuronides in ripening banana fruit. *J. Sci. Food Agric.* 60, 61-68.
- Wade, N.L., Kavanagh, E.E., Tan, S.C. 1993. Sunscald and ultraviolet light injury of banana fruits. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 68, 408-419.
- Wakabayashi, K., Chun, J.P., Huber, D.J. 2000. Extensive solubilization and depolymerization of cell wall polysaccharides during avocado (*Persea americana*) ripening involves concerted action of polygalacturonase and pectinmethylesterase. *Physiol. Plant.* , 108, 345-352.
- Waldron, K.W., Parker, M.L., Smith, A.C. 2003. Plant cell wall and food quality. *Compr. Rev. Food Sci. Food Safety* 2, 128-146.
- Wang, C.Y., Mellenthin, W.H., Hansen, E. 1971. Effect of temperature on development of premature ripening in ‘Bartlett’ pears. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 96, 122-125.

- Watkins, C., Harker, R., Brookfield, P., Tustin, S. 1993. Maturity of Royal Gala, Braeburn and Fuji – the New Zealand experience. Proc. 9th Annu. Washington Treefruit Postharvest Conf. Wenatchee, USA. pp. 16-19.
- Willats, G.T., Orfila, C., Limberg, G. , Buchholt, H.C., Van Alebeek, G.J.W.M. Marcus, A.G.J., Christensen, T.M.L.E., Mikkelsen, J.D., Murray, B.S. 2001. Modulation of the degree and pattern of methylesterification of pectic homogalacturonan in plant cell wall. *J. Biol. Chem.* 22, 19404-19413.
- Watkins, C.B. 2006. The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. *Biotechnol. Adv.* 24, 389-409.
- Wills, R., Lee, T., Grahan, D., McGlasson, W., Hall, E. 1981. *Postharvest: an introduction to the Physiology and Handling of Fruits and Vegetables*. New South Wales University Press Limited. Kensington, Australia, 150pp.
- Woolf , A.B., Ferguson, I.B. 2000. Postharvest responses to high fruit temperatures in the field. *Postharvest Biol. Technol.* 21, 7-20.
- Woolf A.B., Bowen J.H., Ferguson, I. B. 1999. Preharvest exposure to the sun influences postharvest responses of “Hass” avocado fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 143-153.
- Woolf, A.B., Wexler, A., Prusky, D., Kobilier, E., Lurie, S. 2000. Direct sunlight influences postharvest temperature responses and ripening of five avocado cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 125, 370–376.
- Wünsche, J.N., Lakso, A.N. 2000. The relationship between leaf area and light interception by spur and extension shoot leaves and apple orchard productivity. *HortScience* 35, 1202-1206.
- Yamada, H., Takechi, K., Hoshi, A., Amano, S. 2004. Comparison of water relations in watercored and non-watercored apples induced by fruit temperature treatment. *Sci. Hort.* 99, 309–318.
- Yang, S.F., Hoffman, N.E. 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35, 155-189.
- Yoshioka, H., Aoba, K., Kashimura, Y. 1992. Molecular weight and degree of methoxylation in cell wall polyuronide during softening in pear and apple fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 117, 600-606.
- Yuri, J.A., Torres, C., Vásquez, J. 2000a. Golpe de sol en manzanas. Evaluación del daño y métodos de control. *Agro-Ciencia* 16, 13-21.

- Yuri, J.A., Torres, C., Bastías, R., Neira, A. 2000b. Golpe de sol en manzanas. Factores inductores y respuestas bioquímicas. *Agro-Ciencia* 16(1), 23-32.
- Zerbini, P. E., 2002. The quality of pears. *ISHS, Acta Hort.* 596, 805-810
- Zhou, R., Li, Y., Yan, L., Xie, J. 2011. Effect of edible coatings on enzymes, cell-membrane integrity, and cell-wall constituents in relation to brittleness and firmness of Huanghua pears (*Pyrus pyrifolia* Nakai, cv. Huanghua) during storage. *Food Chem.* 124, 569-575.
- Zykwinska, A.W., Ralet, M.C.J., Garnier, C.D., Thibault, J.F.J. 2005. Evidence for *in vitro* binding of pectin side chains to cellulose. *Plant Physiol.* 139, 397-407.