



DETERMINACIÓN DE LOS CAMBIOS BIOQUÍMICOS PARA PREDECIR EL DESARROLLO DE ESCALDADURA SUPERFICIAL EN PERAS

Calvo, Gabriela^{1*}; Colodner, Adrián Dario¹; Raffo, María Dolores¹; del Brio, Josefina^{1,2}; Castro, Andrea Lucia^{1,2}

1 Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Alto Valle, Poscosecha, CC 782 (8338), General Roca, Río Negro, Argentina

2 Universidad Nacional del Comahue (UNComa), Buenos Aires 1050, 8300, Neuquén, Neuquén, Argentina.

calvo.gabriela@inta.gob.ar

RESUMEN: Durante la postcosecha de peras, se pueden expresar fisiopatías como escaldado superficial (ES). La misma, resulta de un proceso oxidativo, siendo la severidad proporcional al grado de oxidación de α -farnesenos (AF) a trienos conjugados (TC). El objetivo de este trabajo fue comprender los cambios bioquímicos que subyacen al desarrollo del ES y determinar los valores de umbral crítico de TC en peras Beurré D'Anjou (BD), Packham's Triumph (PT), Abate Fetel (AF), Rocha(R) y Williams (W). Los frutos se conservaron en frío convencional 240 días. Se determinó mensualmente: producción de etileno, parámetros de madurez, incidencia de ES, contenido de AF, TC, ácido ascórbico (AA), polifenoles (PF) y capacidad antioxidante total (DPPH). Los cultivares presentaron diferente susceptibilidad y patrón de manifestación de ES, correlacionado con el patrón de acumulación TC. Las peras BD fueron las más sensibles a la escaldadura, con una pendiente de acumulación de TC mayor. En BD el umbral fue alto, intermedio en PT y bajo en W, R y AF. BD presentó los menores valores de DPPH, AA y PF a cosecha y durante el almacenamiento. Las variedades de peras demostraron distinta sensibilidad a ES. Se estableció el umbral crítico para cada una.

PALABRAS CLAVE: fisiopatía, trienos conjugados, umbral crítico, predicción.

BIOCHEMICAL CHANGES DETERMINATION TO PREDICT THE SUPERFICIAL SCALD DEVELOPMENT ON PEARS

ABSTRACT: During pears postharvest disorders such as superficial scald (SS), can be developed. This disorder results of oxidative process, which severity is proportional to α -farnesenes (AF) oxidation degree to conjugated trienes (TC). The aim of this study was to characterize biochemical changes associated with the SS development and identify critical threshold values of TC in Beurré D'Anjou (BD), Packham's Triumph (PT), Abate Fetel (AF), Rocha (R) and Williams (W) pears. The fruits were stored on conventional storage for 240 days. Ethylene production, maturity indexes, SS incidence, AF, TC, Ascorbic Acid (AA) and Total Phenols content (TP) and total antioxidant capacity (DPPH), were determined every month. The cultivars showed different susceptibility and SS manifestation pattern, correlated with TC accumulation pattern. Beurré D'Anjou pears were the most sensitive to SS and showed a greater TC accumulation slope. The critical threshold was high in BD, intermediate in PT and low in W, R and AF. At harvest and during storage, BD presented the lowest values of DPPH, AA and PF. The different pears varieties had different sensitivity to SS. The critical thresholds were determined for each pear variety.

KEYWORDS: disorder, conjugated trienes, critical thresholds, prediction.

INTRODUCCIÓN

El escaldado superficial es una alteración fisiológica de postcosecha que afecta la calidad de peras y manzanas en todas las zonas productoras del mundo y que puede originar elevadas pérdidas económicas [1,2]. Esta fisiopatía es el resultado de un proceso oxidativo, y se acepta que, la severidad de la misma, es proporcional al grado de oxidación de los α -farnesenos (AF), sesquiterpenos de origen natural, componentes de la cutícula cerosa y producido por la epidermis del fruto [3].

Se ha observado que, si el contenido de antioxidantes del fruto se mantiene elevado durante el almacenamiento, la oxidación de AF no ocurre o es limitada y no se desarrolla escaldado. El equilibrio entre el contenido de especies oxidativas y la capacidad antioxidante de la piel de

los frutos tiene un rol clave en el desarrollo y progresión del escaldado superficial en manzanas y peras [4, 5, 6].

Las bajas temperaturas de almacenamiento inducen la síntesis de α -farnesenos, posiblemente mediante una activación de los genes respectivos [7]. Los cultivares de peras y manzanas susceptibles a escaldado exhiben una alta tasa de síntesis de α -farnesenos dependiente de etileno, unas semanas después de iniciar el almacenamiento frigorífico [7, 8, 9, 10]. Por otro lado, las temperaturas cercanas a las de congelación del fruto también debilitan los mecanismos antioxidantes de los tejidos de las plantas [11].

Los conocimientos actuales sobre la bioquímica responsable del desarrollo del escaldado demostraron que manzanas y peras siguen un camino similar [5, 12, 13, 14]. Sin embargo, existen algunas diferencias respecto a la producción de etileno y el contenido de antioxidantes que podrían afectar de manera diferente el desarrollo de escaldado superficial en cada especie. Por ejemplo, la mayoría de las variedades de manzana producen etileno después de la cosecha, mientras que las de pera, incluyendo Beurré D'Anjou, requieren la exposición a bajas temperaturas para iniciar la producción autocatalítica de etileno [15]. Relacionado con el contenido de antioxidantes totales, las peras presentan normalmente un menor contenido de antioxidantes que las manzanas [16].

Giné Bordonaba y colaboradores propusieron que la dinámica de acumulación de los trienos conjugados (TC) durante las primeras etapas de almacenamiento (<50 días) en manzanas Granny Smith determina la susceptibilidad al escaldado superficial [17]. Previamente, Chen y colaboradores determinaron que existe una concentración de TC en la piel de las peras Beurré D'Anjou por encima de la cual se manifiesta el escaldado [18]. En frutos de la misma variedad cultivados en el Alto Valle, Argentina, se definió un valor umbral de 20 nmol/cm² de TC por encima del cual se observaron síntomas de escaldado [19, 20]. Se confirmó que, el nivel crítico de TC necesario para desencadenar el desorden en peras Beurré D'Anjou, es del orden de 17-24 nmol/cm² y se estableció que, para Packham's Triumph, el rango es entre 10-14 nmol/cm² [21].

Debido al gran interés de este hallazgo, se propuso determinar este valor umbral en otras variedades de pera. El objetivo de este estudio fue comprender los cambios bioquímicos que subyacen el desarrollo del escaldado superficial durante el almacenamiento y determinar los valores de umbral crítico de TC en frutos de peras Beurré D'Anjou, Packham's Triumph, Abate Fetel, Rocha y Williams en las primeras etapas de almacenamiento en frío.

METODOLOGÍA

Material vegetal y condiciones de almacenamiento

El experimento se llevó a cabo en INTA Alto Valle en peras (*Pyrus communis* L.) de los cultivares Williams, Beurré D'Anjou, Packham's Triumph, Abate Fetel y Rocha. Los frutos de todas las variedades fueron cosechados con madurez óptima basada en las recomendaciones locales. Se embalaron en cajas de cartón 40 frutos homogéneos y libres de defectos, con bolsas de polietileno de baja densidad de 20 µm sin perforar. La fruta se conservó en frío convencional a -0,5 °C y 95% HR. Se realizaron determinaciones después de 0, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 210 y 240 días. En cada una de ellas se determinaron índices de madurez, producción de etileno, desarrollo y severidad de escaldadura, concentración de AF, TC, Ácido Ascórbico (AA) y Polifenoles (PF) y porcentaje de inhibición del DPPH.

Determinaciones de madurez

La madurez al momento de cosecha se determinó en cada fecha sobre 5 repeticiones de 10 frutos cada una. La firmeza de la pulpa (lb) se midió con un penetrómetro electrónico (FTA-GS14, Güss, Sudáfrica), dotado de un embolo de 8 mm de diámetro. Se removieron 2 mm de espesor de la piel en puntos opuestos del plano ecuatorial del fruto y se realizaron dos medidas de firmeza, utilizando el valor promedio. Para determinar los sólidos solubles totales (SST) y la acidez titulable (AT), se retiró una sección longitudinal de cada fruto, de la cual se extrajo el jugo, realizando

las determinaciones con el jugo de los 10 frutos de cada repetición. Los SST (%) se analizaron con un refractómetro digital (PAL1, Atago, Japón) y la AT (g./l.) se determinó por titulación de 10 ml. del jugo con NaOH 0,1 N. hasta pH 8,2, utilizando un pH metro calibrado. El color de la epidermis se determinó con un colorímetro (CR-400, Minolta, Japón). La cromaticidad fue obtenida en las coordenadas espaciales del color CIELAB (L*, a*, b*) y se calculó el ángulo hue como tg⁻¹ (b*/a*). La degradación de almidón (%) se realizó colocando una rodaja de 1-1,5 mm. de espesor en una solución de lugol por comparación con tablas varietales [22]. Se determinó el peso promedio de los frutos (g.), mediante la utilización de una balanza electrónica de precisión.

Producción de etileno

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

Desarrollo de escaldado superficial

El escaldado se determinó sobre 5 repeticiones de 10 frutos cada una después de 0, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 210 y 240 días a -0,5 °C y 7 días a 20 °C. Se determinó la incidencia y la severidad de forma visual. La incidencia se expresó como el porcentaje de fruta afectada y la severidad se clasificó según los siguientes grados: Grado 1 (leve): menos de 25% de la superficie total del fruto con manchas; Grado 2 (moderado): más del 25% y menos del 50% de la superficie total del fruto con mancha; Grado 3 (severo): más del 50% y menos del 75% de la superficie total del fruto con manchas; Grado 4 (muy severo): más del 75% de la superficie total del fruto con manchas (Figura 1). Se calculó el índice de escaldado superficial (IES) utilizando la siguiente fórmula [23]:

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



Figura 1 - Severidad de Escaldado Superficial según el porcentaje de la superficie del fruto afectada por manchas en peras Beurré D'Anjou,

Extracción y cuantificación de α-farnesenos (AF) y trienos conjugados (TC)

Las determinaciones de AF y TC se realizaron según el método de Anet [24] con algunas modificaciones. Se extrajo una tira de piel de la zona

ecuatorial de 10 frutos por tratamiento. Se extrajeron de las mismas 5 discos de 10 mm y se sumergieron en 10 ml. de hexano de grado HPLC, 10 minutos, con agitación. Se diluyó 1:5 en hexano puro. Las determinaciones se realizaron con un UV-espectrofotómetro (1001- Plus, Milton Roy, EE. UU.). Los AF se cuantificaron a 232 nm (DO232), utilizándose un coeficiente de extinción de E232= 27,700. Los TC fueron registrados como CT281= DO281-290, utilizando un coeficiente de extinción promedio E= 25,000. Ambos compuestos se expresaron como nmol/cm² de área de la piel del fruto.

Contenido de Ácido Ascórbico (AA)

En todas las evaluaciones se determinó el contenido de AA por espectrofotometría a 524 nm, en base a la reacción de reducción del 2,6-diclorofenol-indofenol (DCIP) por el AA. Se realizaron 6 repeticiones de muestra, cada una constituida por la piel de 5 frutos, a la cual se la colocó en un recipiente con 300 ml. de H₃PO₄ al 1% (p/v) y se trituró con un mixer [25]. Una alícuota de 0,15 ml. de muestra se mezcló con 0,5 ml. de solución acuosa de DCIP (30 mg./l.). Se dejó transcurrir la reacción durante 30 s. e inmediatamente después se registró la absorbancia, a la cual se le descontó la medida del blanco de reactivos conteniendo ácido fosfórico 80% (v/v) en lugar de muestra. Los resultados se expresaron como contenido de ácido ascórbico en mg./100 g. de muestra.

Extractos metanólicos

Para la determinación de DPPH y PF se utilizaron extractos metanólicos. se congeló con nitrógeno líquido la piel de 10 frutos diferentes, se liofilizó y molió. Se agregó 1,7 ml. de metanol ácido al 80% (v/v) a 0,1 g. de polvo liofilizado y se agitó 2 horas. Se centrifugó a 11.000 g. durante 5 minutos. Se extrajo el sobrenadante y se guardó.

Capacidad antioxidante total (DPPH)

La capacidad antioxidante total se determinó utilizando el método del DPPH [26]. Una alícuota de 20 µL. del extracto diluido en agua destilada (1:5 v/v) se mezcló con 980 µL. de 1-difenil-2- picrilhidrazil (DPPH; Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania) y se dejó en oscuridad durante 30 min. a 4 °C. La absorbancia inicial (Ai) se midió a 517 nm en el blanco (agua bidestilada) y la absorbancia final (Af) se midió después del período de incubación usando un UV- espectrofotómetro (1001 Plus, Milton Roy, EE. UU.). El porcentaje de inhibición (%) se calculó con la siguiente formula: (Ai) - (Af) / (Ai) x100.

Contenido de polifenoles totales (PF)

En todas las evaluaciones se determinó el contenido de PF por espectrofotometría. Este método se basa en la reacción de óxido-reducción entre los iones Tungsteno (W) y Molibdato (Mo), contenidos en el reactivo de Folin-Ciocalteu (F-C), y los fenoles. En una cubeta de 4,5 ml. se agregaron 1,58 ml. de agua, 0,02 ml. de extracto metanólico de la muestra, y 0,1 ml. de solución de F-C, y se dejó reposar durante 8 min. Luego se agregaron 0,3 ml. de solución Na₂CO₃ al 20% (p/v) y se dejó reposar durante 2 horas a temperatura ambiente y oscuridad. Se midió la absorbancia a 765 nm y los resultados se expresaron como mg. equivalentes de ácido gálico en 100 ml. de muestra.

Análisis estadístico

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

RESULTADOS Y DISCUSION

Estado de madurez a cosecha

Tabla 0.1 - Índices de madurez a cosecha de peras de los cultivares Williams, Beurré D'Anjou, Rocha, Packham's Triumph y Abate Fetel.

Variedad	Fecha Cosecha	Firmeza (lb.)	SST (%)	AT (g./l.)	Color (Hue)	Degr. Almidón (%)	Calibre (mm.)
Williams	01/02	19,4 a	10,9 b	4,3 a	120,4 a	9,3 d	69,2 b
B. D'Anjou	10/02	14,4 bc	11,3 b	3,8 b	118,6 b	29,5 c	72,2 ab
Rocha	10/02	14,4 bc	10,0 c	2,4 c	116,2 c	75,7 a	63,0 c
P. Triumph	16/02	15,4 b	10,9 b	2,7 c	118,0 b	50,4 b	75,4 a
Abate Fetel	16/02	13,9 c	12,6 a	2,4 c	118,7 b	57,2 b	61,8 c
p-valor		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente, Tukey $\alpha=0,05$

La madurez recomendada para iniciar la cosecha en el cultivar Williams en el Alto Valle es cuando el fruto cuenta con un promedio de 106 días de edad y ha alcanzado un tamaño mínimo de 64 a 65 mm., la firmeza de la pulpa ha bajado a 20-21 lb., los sólidos solubles superan el 10%, la acidez málica es de 3-4 g/l. y el almidón se ha degradado en un 20-25% de la superficie del plano ecuatorial [27]. En la temporada de estudio el sello (Fecha autorizada de cosecha) para este cultivar en el Alto Valle se fijó para el 17 de enero. Las peras de este ensayo se cosecharon 15 días después, con valores de firmeza, AT y SST similares a los recomendados para el inicio de la cosecha, pero con una baja degradación de almidón (Tabla 1).

En el caso del cultivar Beurré D'Anjou la cosecha se inicia cuando el fruto cuenta con un promedio de 129 días de edad, la firmeza de la pulpa ha caído a 15,5-16,5 lb., los sólidos solubles superan el 10-11%, la acidez málica es de 3,5-4 g/l. y el almidón se ha degradado en un 20-25% de la superficie del plano ecuatorial [27]. En la temporada de estudio el sello para este cultivar se fijó el 28 de enero. Los frutos se cosecharon 13 días después, con una firmeza menor a la recomendada para el inicio de cosecha y con valores adecuados de AT, SST y degradación de almidón (Tabla 1).

En peras Rocha el inicio de cosecha se produce cuando el fruto cuenta con un promedio de 133-138 días de edad, la firmeza de la pulpa ha caído a 12,1-14,3 lb, los sólidos solubles 11-13%, la acidez málica es de 2,0-2,2g./l. y el almidón alcanza un valor de 5-7 de índice de Almidón [27]. En la temporada de estudio el sello para Rocha salió el 28 de enero. Los frutos del ensayo se cosecharon 13 días después, con valores de firmeza y AT ligeramente superiores a los recomendados para inicio de cosecha (Tabla 1).

En el Alto Valle la cosecha de peras Packham's Triumph se inicia unos 138 días después de plena floración; con una firmeza de la pulpa de 15,5 a 17,5 lb., 10-11% de sólidos solubles, 3,5-4 g./l. de acidez málica y 20-30% de almidón degradado [27]. En la temporada de estudio el sello para Packham's Triumph salió el 7 de febrero. Los frutos de este ensayo se cosecharon 9 días después del inicio de cosecha, con valores de firmeza en el rango mínimo, una baja AT y una mayor degradación de almidón que la recomendada para el inicio de cosecha (Tabla 1).

Las peras Abate Fetel alcanzan la madurez para el inicio de cosecha a los 135 a 138 días después de plena floración, cuando la firmeza de pulpa esta entre 12-12,8 lb. y los sólidos solubles superan 11%, con 2,5-3 g./l. de acidez málica y 30-40% de almidón degradado. En la temporada de estudio el sello para Abate Fetel salió el 2 de febrero. Los frutos de este ensayo se cosecharon 14 días después del sello, con una firmeza superior a la recomendada, pero con menor acidez y mayor degradación de almidón (Tabla 1).

Producción de Etileno a cosecha

La producción de etileno al momento de cosecha fue indetectable en peras Williams, Beurré D’ Anjou y Packham’s Triumph. Las peras Rocha y Abate Fetel comenzaron a producir cantidades detectables de etileno a los 15 y 5 días posteriores a la cosecha respectivamente. A partir de allí, la producción de etileno en ambos cultivares comenzó a incrementarse hasta alcanzar el pico climatérico. En el caso de peras Rocha el pico se produjo después de 26 días a 20°C, y en peras Abate Fetel después de 13 días a 20°C (Figura 2).

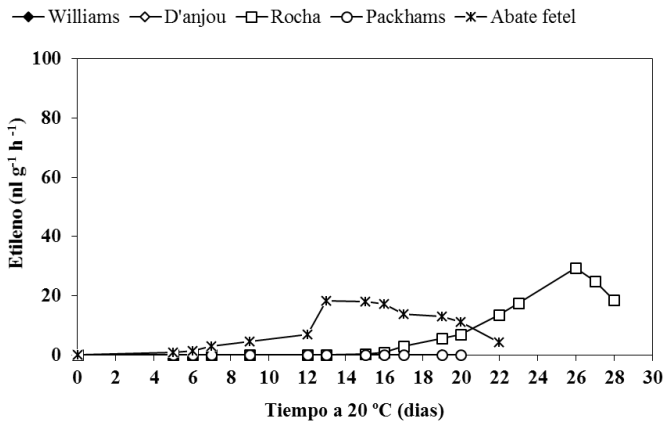


Figura 2 - Producción de etileno durante la vida en estante a 20°C posterior a la cosecha de peras Williams, Beurré D’Anjou, Rocha, Packhams Triumph y Abate Fetel.

Producción de Etileno después del almacenamiento

Los cultivares tuvieron un patrón de producción de etileno diferente (Figura 3), que se evidenció en las variables analizadas (demora, climaterio, magnitud) (Tabla 2).

El cultivar Williams no produjo etileno en la cosecha, pero la inducción de etileno se produjo rápidamente a bajas temperaturas. A los 15 días de almacenamiento, la demora en la producción de etileno fue de 4 días, y a partir de esa fecha los frutos ya salían de la cámara produciendo etileno. El pico climatérico se alcanzó a los 17 días, después de 15 días a bajas temperaturas. A partir de los 30 días el pico se alcanzó a los 7 días, y en las últimas evaluaciones al día de salida de la cámara. Los frutos de esta variedad no pudieron evaluarse a partir de los 180 días debido a la sobremadurez (Tabla 2)

El cultivar Beurré D’Anjou fue el que requirió mayor tiempo de exposición a bajas temperaturas para iniciar la producción de etileno, que se observó a partir de los 90 días, con una demora de 8 días. Sin embargo, después la producción se incrementó rápidamente, ya que a partir de los 120 días los frutos ya salían de la cámara produciendo etileno. El pico climatérico a los 120 días, se detectó después de 12 días a temperatura ambiente y en todas las evaluaciones a partir de los 120 días fue el cultivar que más tarde en alcanzarlo (Tabla 2).

Los cultivares Rocha y Abate Fetel no necesitaron exposición a bajas temperaturas para iniciar la producción de etileno y ambos comenzaron a producir etileno desde la salida de cámara a partir de los 60 días. En la cosecha, el cultivar Abate Fetel, produjo el pico climatérico 13 días antes que Rocha, pero después el tiempo necesario para alcanzar el pico fue similar en ambos cultivares (Tabla 2).

El cultivar Packham’s Triumph requirió 15 días a 0°C para producir etileno. Y fue el que más demoro en alcanzar el pico, pero junto con Williams fueron las que tuvieron mayor magnitud de climaterio (Figura 3).

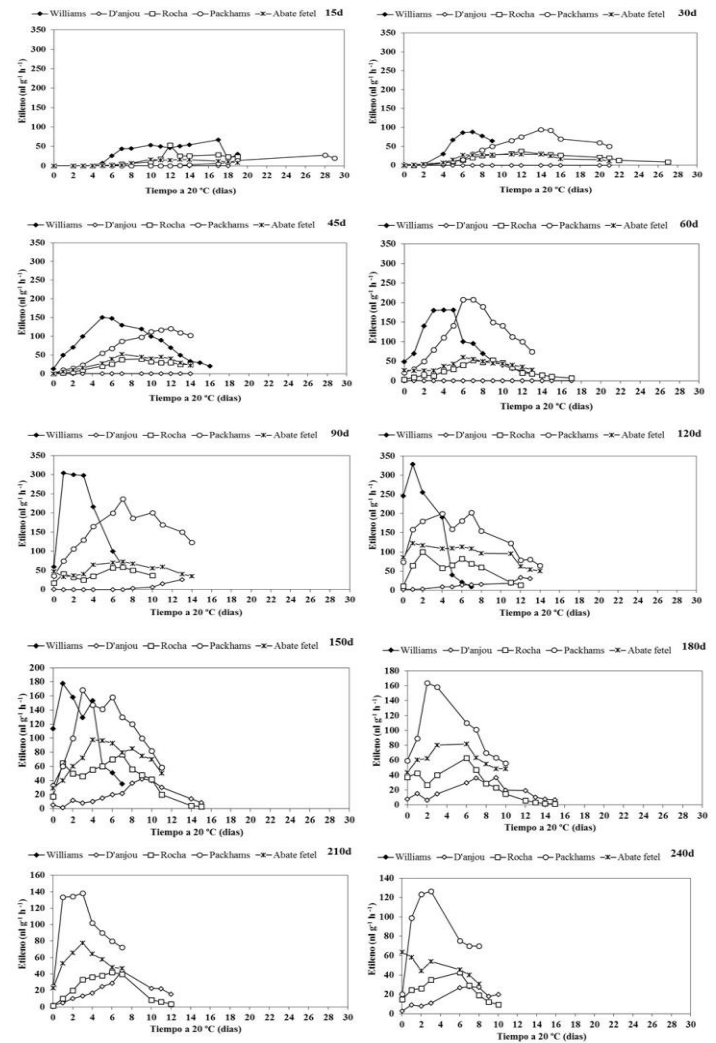


Figura 3 - Producción de etileno de peras de los cultivares Williams, Beurré D’Anjou, Rocha, Packham’s Triumph y Abate Fetel, durante la vida en estante a 20°C después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C.

Tabla 2 - Tiempo hasta empezar a producir etileno (demora), tiempo hasta alcanzar el climaterio (climaterio) y magnitud del climaterio (magnitud) de peras de los cultivares Williams, Beurré D’Anjou, Rocha, Packham’s Triumph y Abate Fetel, después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C.

	Cultivar	Tiempo a -0,5°C (días)									
		0	15	30	45	60	90	120	150	180	210
Demora	Williams	nd	4	0	0	0	0	0	0	-	-
	B. D’Anjou	nd	nd	nd	nd	nd	8	0	0	0	0
	Rocha	16	5	2	1	0	0	0	0	0	0
	P. Triumph	nd	13	4	1	0	0	0	0	0	0
	Abate Fetel	5	6	1	1	0	0	0	0	0	0
Climaterio	Williams	nd	17	7	6	5	3	1	1	-	-
	B. D’Anjou	nd	nd	nd	nd	nd	13	12	9	7	7
	Rocha	26	12	12	9	7	7	6	7	6	6
	P. Triumph	nd	28	14	12	6	7	7	3	2	3
	Abate Fetel	13	13	14	7	6	7	3	3	3	3
Magnitud	Williams	nd	67	88	148	181	303	328	178	-	-
	B. D’Anjou	nd	nd	nd	nd	nd	26	33	42	36	43
	Rocha	29	53	37	39	53	58	82	77	63	42
	P. Triumph		28	95	120	208	237	203	168	163	138
	Abate Fetel	18	16	29	52	60	73	160	98	80	77

Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente, Tukey α= 0,05 nd: no detectable durante los 30 días de vida en estante (20 °C).

Determinaciones de madurez después del almacenamiento

Se considera que las peras están aptas para consumo cuando alcanzan valores de firmeza de alrededor de 4 lb [28]. Las peras de este ensayo, alcanzaron estos valores al cabo de 7 días de vida en estante a partir de la evaluación de 60 días, excepto Beurré D’Anjou. Los frutos de esta variedad mantuvieron hasta los 90 días valores de firmeza superiores a

los recomendados para consumo (Tabla 3), indicando una menor tasa de ablandamiento inicial que el resto de los cultivares. Por su parte, Williams mostró síntomas de sobremadurez cuando el almacenamiento se extendió por más de 150 días, por lo cual se discontinuó su evaluación.

Todos los cultivares perdieron color verde durante el almacenamiento y la vida en estante. Tras 150 días de almacenamiento, las peras Williams perdieron el 25% del valor de hue con respecto al valor de cosecha, seguida por las peras Rocha y Abate Fetel, que perdieron el 15% luego de 240 días y, por último, Packham's Triumph y Beurré D'Anjou que perdieron entre el 16 y 15 % tras 240 días (Tabla 1 y Tabla 4).

Tabla 3 - Firmeza (lb) determinada después de distintos periodos de almacenamiento a -0,5°C y 7 días a 20° C de peras de los cultivares Williams, Beurré D'Anjou, Rocha, Packhams Triumph y Abate Fetel.

Variedad	60	90	120	150	180	210	240
Williams	2,4 c	1,6 d	1,8 c	2,2 c	-	-	-
B. D'Anjou	5,2 a	8,4 a	2,8 b	2,5 c	2,2 c	3,1 b	3,5 a
Rocha	1,9 c	2,3 c	3,3 b	3,1 b	3,5 b	4,0 a	3,9 a
P. Triumph	2,3 c	1,6 d	2,3 c	2,4 c	3,2 b	3,2 b	2,9 b
Abate Fetel	3,4 b	3,7 b	4,5 a	4,6 a	4,4 a	4,4 a	4,2 a
p-valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0001	0,0024	0,0035

Medias con una letra común no difieren estadísticamente Tukey $\alpha = 0,05$

Tabla.4. Color de la epidermis (Hue) determinada después de distintos periodos de almacenamiento a -0,5°C y 7 días a 20° C de peras de los cultivares Williams, Beurré D'Anjou, Rocha, Packham's Triumph y Abate Fetel.

Variedad	60	90	120	150	180	210	240
Williams	102,4 c	99,8 c	89,7 d	90,0 d	-	-	-
B. D'Anjou	115,6 a	115,7 a	108,0 a	106,7 a	102,5 a	104,7 a	100,7 a
Rocha	97,2 d	96,0 c	93,8 c	93,4 c	93,0 c	92,3 b	90,5 b
P. Triumph	109,9 b	104,2 b	103,4 b	100,3 b	101,5 a	101,3 a	98,1 a
Abate Fetel	103,0 c	102,8 b	99,9 b	97,4 b	97,4 b	93,3 b	92,1 b
p-valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0001	<0,0001	<0,0001

Medias con una letra común no difieren estadísticamente Tukey $\alpha = 0,05$

Desarrollo de Escaldado Superficial

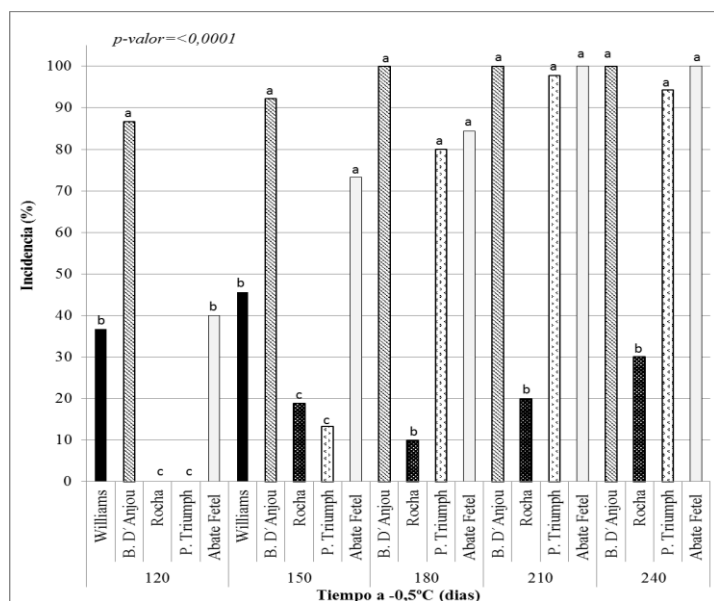


Figura 3 - Incidencia de escaldado superficial (% de fruta afectada) de peras de los cultivares Williams, Beurré D'Anjou, Rocha, Packham's Triumph y Abate Fetel, después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C. Dentro de cada periodo de almacenamiento (120, 150, 180, 210 y 240), las medias con una letra común no difieren estadísticamente Tukey $\alpha = 0,05$

No se observaron síntomas de escaldado superficial hasta los 90 días de almacenamiento en ninguno de los cultivares evaluados. A los 120 días, se observaron diferencias significativas en la incidencia de escaldado para los diferentes cultivares durante la vida en estante a 20 °C. Las peras de los cultivares Williams, Beurré D'Anjou y Abate Fetel se vieron afectados en un 37, 87 y 40 %, respectivamente; mientras que Rocha y Packham's Triumph no manifestaron síntomas (Figura 4).

Tabla.5 - Índice de escaldado superficial (IES) de peras de los cultivares Williams, Beurré D'Anjou, Rocha, Packham's Triumph y Abate Fetel, después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C y 7 días a 20 °C.

Variedad	Tiempo de almacenamiento (días)					
	90	120	150	180	210	240
Williams	0,0	0,5 b	0,7 b	-	-	-
B. D'Anjou	0,0	1,1 a	2,6 a	3,3 a	3,2 a	3,5 a
Rocha	0,0	0,0 c	0,2 c	0,2 c	0,2 b	0,4 b
P. Triumph	0,0	0,0 c	0,2 c	1,5 b	1,8 a	2,4 a
Abate Fetel	0,0	0,4 b	1,1 b	1,6 b	2,3 a	2,9 a
p-valor	sd	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0017	<0,0001

Medias con una letra común no difieren estadísticamente. Tukey. $\alpha = 0,05$

Se observó un patrón de manifestación de escaldado distinto según las variedades. En la variedad Beurré D'Anjou, la aparición fue explosiva, ya que a los 90 días no había frutos escaldados, un mes más tarde la incidencia fue del 87%, afectando la totalidad de los frutos a los 180 días (Figura 4). En el otro extremo, el escaldado se desarrolló lentamente en el cultivar Rocha, donde comenzó a manifestarse después de 150 días, afectando a menos del 20% de los frutos, y al finalizar el almacenamiento la incidencia fue del 30 %. Los demás cultivares tuvieron un comportamiento intermedio, llegando a afectar más del 90 % de los frutos al finalizar el almacenamiento, salvo Williams que solo pudo evaluarse hasta los 150 días.

Se debe tener cuenta que el escaldado superficial progresa hasta afectar la totalidad de los frutos. En este ensayo, después de los 180 días de almacenamiento, el escaldado afectó a más del 80% de los frutos de las variedades evaluadas, salvo Rocha. A partir de esa evaluación las diferencias estadísticas se encontraron entre Rocha, con una baja incidencia y severidad de escaldado y el resto de los cultivares (Figura 4, Tabla 5).

Cinética de α -farnesenos (AF) y trienos conjugados (TC)

Desde el día de cosecha se pudo detectar un bajo contenido de AF, tanto en las variedades que estaban produciendo etileno (Rocha y Abate Fetel) como en aquellas que no. Esto sugiere que la síntesis de AF es en cierta medida independiente de etileno, como ya ha sido observado en trabajos previos. Los AF se acumularon hasta alcanzar un máximo a los 60-90 días en todos los cultivares, momento a partir de cual comenzaron a descender lentamente debido a su oxidación. Los valores máximos de AF variaron entre 33 y 80 nmol. /cm², siendo los valores más bajos los de Rocha y los más altos los de Abate Fetel. Rocha presentó la menor acumulación de AF durante todo el periodo de evaluado (Figura 5).

La acumulación de TC fue baja durante los primeros 45 días de almacenamiento, momento a partir del cual se observó un comportamiento diferente entre Beurré D'Anjou y el resto de los cultivares. En este cultivar se observó un rápido incremento de los TC, que alcanzaron un valor máximo de 25 nmol. /cm². a los 150 días y se mantuvieron estables en este valor durante todo el período de almacenamiento restante. En el resto de los cultivares la acumulación fue significativamente menor, observándose los valores más bajos en Williams, Rocha y Abate Fetel y valores intermedios en Packham's Triumph (Figura 5).

Con respecto al UC necesario para el desarrollo de escaldado se observa una diferencia marcada entre Beurré D'Anjou y el resto de las variedades estudiadas, siendo el umbral significativamente más alto en este cultivar. En el resto de los cultivares el UC fue significativamente menor, observándose los valores más bajos en Williams Rocha y Abate Fetel y valores intermedios en Packham's Triumph (Tabla 6).

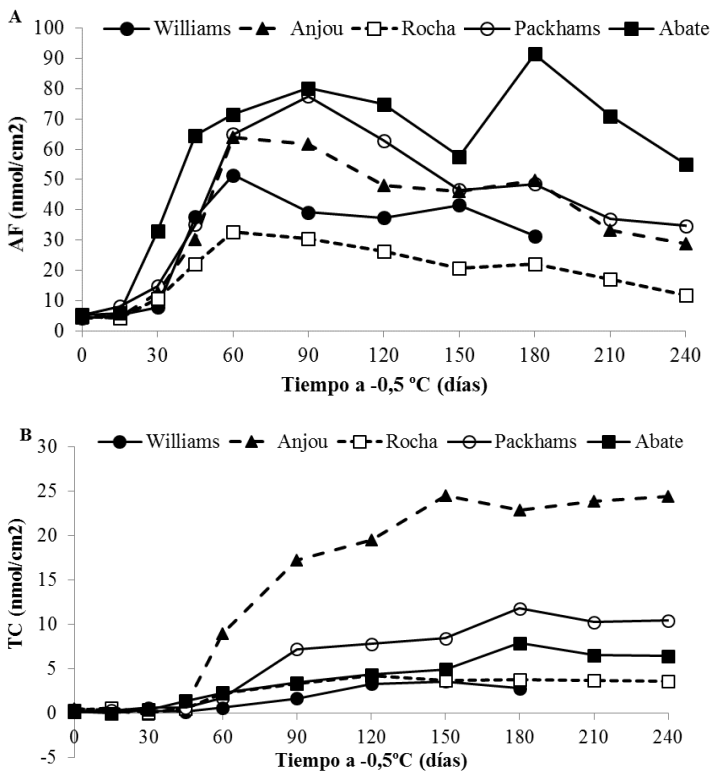


Figura 5 - Contenido de α -farneseno (A) y trienos conjugados (B) en la piel de peras de los cultivares Williams, Beurré D'Anjou, Rocha, Packham's Triumph y Abate Fetel después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5^{\circ}\text{C}$. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición).

Tabla.6. Umbral crítico (UC) de TC necesario para el desarrollo de escaldado superficial en peras de los cultivares Williams, Beurré D'Anjou, Rocha, Packham's Triumph y Abate Fetel

	UC de TC	Incidencia de Escaldado Superficial (%)	Tiempo de Almacenamiento (Días)
Williams	3,3	36	120
B. D'Anjou	19,5	87	120
Rocha	3,7	18	150
P. Triumph	8,5	13	150
Abate Fetel	4,4	40	120

Se calcularon las pendientes de la curva de acumulación de TC entre los 0 y 90 días. En este periodo de tiempo es donde la curva de acumulación se mantiene lineal (Tabla 7). Se puede observar en las ecuaciones de acumulación de TC que la pendiente de Beurré D'Anjou es mayor que la de las otras variedades. La misma es de 0,1939 mientras que la que le sigue (P. Triumph) es de menos de la mitad, tomando el valor de 0,0718. Esto justifica el patrón explosivo de escaldado que presenta Beurré D'Anjou, dado que la oxidación de AF a TC se produce con mayor velocidad, generando concentraciones mayores de TC y produciendo así, la explosividad en la manifestación del escaldado superficial.

Tabla.7 - Ecuaciones lineales de acumulación de TC entre los 0 y 90 días de conservación

Variedad	Ecuación lineal de acumulación
B. D'Anjou	$y = 0,1939x - 3,087$
P. Triumph	$y = 0,0718x - 1,0739$
A. Fetel	$y = 0,049x - 0,3303$
Rocha	$y = 0,0345x - 0,1826$
Williams	$y = 0,0158x - 0,0873$

Contenido de Ácido Ascórbico:

En todas las variedades, el contenido de ácido ascórbico (vitamina C) descendió rápidamente durante los primeros 60 días de almacenamiento. El menor contenido inicial de ácido ascórbico se observó en Beurré D'Anjou. La variedad Packham's Triumph presentó el mayor contenido

inicial de ácido ascórbico y la menor tasa de pérdida, presentando los mayores valores también al final del periodo evaluado (Figura 6).

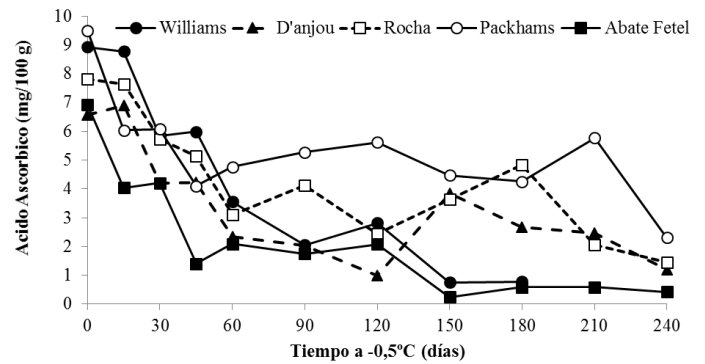


Figura 6 - Contenido de Ácido Ascórbico en la piel de peras de los cultivares Williams, Beurré D'Anjou, Rocha, Packham's Triumph y Abate Fetel después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5^{\circ}\text{C}$. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición)

Capacidad Antioxidante Total (DPPH)

El potencial antioxidante inicial de los frutos (DPPH) estuvo entre 32 y 44%. En general el DPPH descendió durante los primeros 15-30 días de almacenamiento y se mantuvo relativamente estable a partir de los 90 días de almacenamiento (Figura 7).

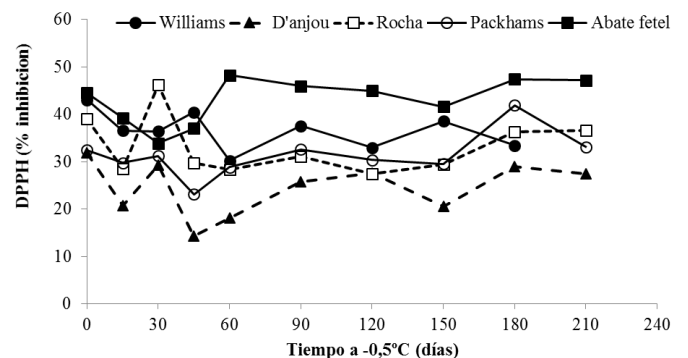


Figura 7 - Cambios en la capacidad antioxidante (% de inhibición) en la piel de peras de los cultivares Williams, Beurré D'Anjou, Rocha, Packham's Triumph y Abate Fetel después de diferentes periodos de almacenamiento a $-0,5^{\circ}\text{C}$. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición).

No se encontraron patrones claros en los cambios del potencial antioxidante, pero si una menor capacidad antioxidante en Beurré D'Anjou con respecto al resto de los cultivares tanto a la cosecha como durante todo el periodo evaluado. Si se considera el promedio de DPPH a lo largo de todo el periodo evaluado, este sería 24% para Beurré D'Anjou, 31% para Packham's Triumph, 33% para Rocha 36% para Williams y 42% para Abate Fetel.

Contenido de polifenoles

El contenido de polifenoles inicial estuvo entre 2,8 y 4,9 mg./100 g. de fruta y en general se mantuvo relativamente estable desde los 90 días de almacenamiento. El contenido de polifenoles en Beurré D'Anjou fue marcadamente menor al del resto de los cultivares tanto al momento de la cosecha como durante todo el periodo evaluado (Figura 8).

Las frutas de diferentes cultivares de manzana y pera varían ampliamente en su susceptibilidad a la escaldadura superficial. A pesar de que se ha investigado durante décadas, la razón de tal variabilidad no está claramente definida. En manzanas, Pechous y Whitaker [29] relacionaron la resistencia al escaldado con diferentes tasas de expresión

del gen de α -farneseno sintasa (AFS1) y a las diferencias resultantes en la tasa de acumulación de AF y TC durante el almacenamiento en frío. Para otros autores, la diferencia de sensibilidad entre los cultivares en manzana está relacionada con la cantidad de antioxidantes en la piel y con la influencia que ciertos factores de precosecha pueden tener sobre la síntesis de AF [30]. En el caso de peras, la información sobre las diferencias en la susceptibilidad a la escaldadura entre diferentes variedades está poco documentada.

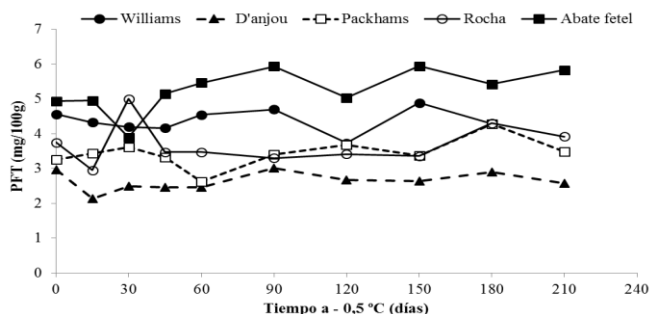


Figura 8 - Polifenoles totales en la piel de peras de los cultivares Williams, Beurré D'Anjou, Rocha, Packham's Triumph y Abate Fetel después de diferentes periodos de almacenamiento a -0,5 °C. Los valores representan la media de 5 repeticiones (10 frutos por repetición).

En analogía con las manzanas, generalmente se asume que las diferencias entre los cultivares de pera están principalmente relacionadas con la capacidad de cada cultivar para producir etileno y / o para regular el metabolismo del etileno durante el estrés por frío [31]. El contenido de antioxidantes en la cosecha y / o el potencial endógeno de cada cultivar para regular los niveles de antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos durante el almacenamiento en frío también se consideran factores clave [31]. En un ensayo anterior se demostró que la susceptibilidad a la escaldadura en pera fue dependiente del cultivar [21]. En este ensayo se amplió el rango de cultivares, en los que se observó una clara diferencia en cuanto a su sensibilidad al escaldado. De acuerdo con los resultados obtenidos, el orden de susceptibilidad al escaldado sería, de mayor a menor: Beurré D'Anjou, Abate Fetel, Williams, Packham's Triumph y Rocha (Figura 4).

Las 'peras de invierno' producen bajos niveles de etileno en la cosecha y requieren un período a bajas temperaturas para inducir la producción de etileno y la maduración normal del fruto durante la vida comercial. Durante este proceso, las bajas temperaturas promueven la síntesis de etileno [32, 33]. Los cultivares utilizados en este ensayo tuvieron distinto requerimiento de bajas temperaturas para inducir la producción de etileno. Rocha y Abate Fetel, no requirieron la exposición a bajas temperaturas para iniciar la producción de etileno, ya que los frutos de estas variedades produjeron etileno desde la cosecha (Tabla 2). Williams y Packham's Triumph requirieron 15 días a bajas temperaturas para iniciar la producción de etileno; mientras que Beurré D'Anjou fue el cultivar que más tiempo de requirió, necesitando 90 días para inducir la producción de etileno (Tabla 2). Es interesante notar que, entre los cultivares evaluados, el más sensible fue Beurré D'Anjou, que fue el que más tarde produjo etileno, y el menos sensible fue Rocha, que produjo etileno desde la cosecha.

En este ensayo, el patrón de acumulación de AF observado para todos los cultivares fue similar al descrito previamente para manzanas [9] y peras [13, 34]. Los AF se acumularon hasta alcanzar un máximo a los 60-90 días en todos los cultivares, momento a partir de cual comenzaron a

descender lentamente debido a su oxidación (Figura 5). En general, los cambios en el metabolismo de AF fueron acordes con el modelo que asocia la acumulación de AF y su oxidación con el desarrollo de escaldado.

Es importante destacar que se observaron diferencias entre cultivares en cuanto al potencial para prevenir la oxidación de AF. A pesar de que las peras Beurré D'Anjou presentaron niveles intermedios de acumulación de AF, exhibieron los niveles más altos de TC durante el almacenamiento, con una pendiente de acumulación significativamente mayor al resto de los cultivares (Figura 5), lo cual ya ha sido observado en un trabajo previo [21]. Estos resultados indican que la sensibilidad específica a la escaldadura de cada cultivar no está determinada por los niveles iniciales de AF, sino por la capacidad de cada cultivar para prevenir la oxidación de AF, probablemente por su potencial antioxidante o por la acción de antioxidantes específicos.

Si bien la relación entre la presencia de antioxidantes y la sensibilidad a la escaldadura ha sido bien establecida en las manzanas [35], el papel específico que cada antioxidante puede jugar en las peras aún no está claro. Los resultados obtenidos en este trabajo apoyan la idea de que la capacidad antioxidante de los frutos es clave en la prevención de la escaldadura superficial, siendo que la variedad más sensible a este desorden fue la que presentó los menores valores de DPPH, ácido ascórbico y polifenoles al momento de la cosecha y la que menores valores de DPPH y polifenoles sostuvo durante el almacenamiento.

Con respecto al UC necesario para el desarrollo de escaldado, se observa una diferencia marcada entre el cultivar Beurré D'Anjou y el resto, siendo el umbral significativamente más alto en este cultivar. En ensayos anteriores se demostró que las peras presentan un umbral crítico de TC a partir del cual se manifiesta escaldado superficial después de 7 días de vida en estante posterior al almacenamiento a bajas temperaturas, que es dependiente del cultivar [21]. En el caso de peras Beurré D'Anjou el UC sería del orden de 17-24 nmol. /cm² y en peras Packham's Triumph este rango se encuentra entre 10 y 14 nmol. /cm², dependiendo de la madurez a cosecha. En este ensayo, se confirmó el UC establecido para Beurré D'Anjou, ya que los frutos manifestaron escaldado cuando los niveles de TC eran de 19,5 nmol. /cm². En peras Packham's Triumph el UC fue de 8,45 nmol/cm², es decir un poco más bajo que el obtenido por Calvo [36]. El resto de los cultivares presentaron UC más bajos, de 3,3; 3,7 y 4,4 nmol/cm², para Williams, Rocha y Abate Fetel, respectivamente (Tabla 6).

CONCLUSIONES

Este trabajo permitió aportar nuevos conocimientos sobre las bases bioquímicas del escaldado superficial en peras, estableciendo el rol del etileno, de los trienos conjugados y de los antioxidantes endógenos en el desarrollo de esta fisiopatía. Nuestros hallazgos sugieren que estas variables interactúan entre sí de manera diferente en cada variedad.

Los resultados obtenidos mostraron la gran especificidad que presenta el modelo, el cual no parece ser estrictamente dependiente de la tasa de producción de etileno, ya que el cultivar Beurré D'Anjou, que demostró ser el más sensible, es el que comienza a producir etileno más tarde.

No se observó una relación estricta entre capacidad de producción de etileno y los niveles de α -farnesenos. Los frutos que no producían etileno presentaron niveles importantes de α -farnesenos, lo que indica que, en pera, la síntesis de α -farnesenos podría ser regulada por otros factores como, por ejemplo, el frío. Estos resultados aún por completar son

novedosos y de gran utilidad para entender la etiología del escaldado en pera durante su conservación.

Las variedades estudiadas demostraron distinta sensibilidad a esta fisiopatía, que se correlaciona con el patrón de acumulación de trienos conjugados. Se ha podido establecer también un nivel crítico de trienos conjugados necesario para desencadenar el desorden en las variedades de pera evaluadas. La definición de niveles críticos de TC se puede considerar además como una determinación rápida para predecir la "situación de riesgo" de un lote de fruta.

En manzanas se ha demostrado que la menor sensibilidad al escaldado en frutos cosechados más tarde se relaciona con un mayor contenido de antioxidantes en la piel. El papel de los antioxidantes en peras era aún desconocido. En este trabajo pudo observarse que el cultivar Beurré D'Anjou a cosecha presentó los menores valores de capacidad antioxidante total, el menor contenido inicial de ácido ascórbico y de polifenoles. Estos datos abren nuevas perspectivas en el estudio que aún queda pendiente para resolver el control del escaldado en pera.

REFERENCIAS

[1] J.P. Zoffoli, D. Richardson, P.M.Chen. "Principales antecedentes orientados al manejo integrado del desorden fisiológico escaldadura de manzanas y peras". *Revista Frutícola*, 16, **1995**, 89-95.

[2] Z. Wang, D.R. Dilley. "Control of superficial scald of apples by low-oxygen atmospheres." *HortScience*, 34, **1999**, 1145-1151.

[3] E.E. Huelin, K.E. Murray. "Farnesene in the natural coating of apples." *Nature*, 210, **1966**, 1260-1261.

[4] M.V. Rao, C.B. Watkins, S.K. Brown, N.F. Weeden. "Active oxygen species metabolism in 'White Angel' × 'Rome Beauty' apple selections resistant and susceptible to superficial scald." *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 123, **1998**, 299-304

[5] P. Zubini, E. Baraldi, A. De Santis, P. Bertolini, M. Mari M. "Expression of antioxidant enzyme genes in scald-resistant 'Belfort' and scald-susceptible 'Granny Smith' apples during cold storage". *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 82, **2007**, 149-155.

[6] F.J.P. Silva, M.H. Gomes, F. Fidalgo, J.A. Rodrigues, D.P. Almeida. "Antioxidant properties and fruit quality during long-term storage of 'Rocha' pear: effects of maturity and storage conditions." *J. Food Qual.* 33, **2010**, 1-20.

[7] N.E. Gapper, J. Bai, B.D. Whitaker. "Inhibition of ethylene-induced -farnesene synthase gene PcAFS1 expression in 'd'Anjou' pears with 1-MCP reduces synthesis and oxidation of -farnesene and delays development of superficial scald." *Postharvest Biol. Technol.*, 41, **2007**, 225-233

[8] F.E. Huelin, I.M. Coggiola. "Superficial scald, a functional disorder of stored apples. IV. Effect of variety, maturity, oiled wraps and diphenylamine on the concentration of α -farnesene in the fruit." *J. Sci. Food Agric.*, 19, **1968**, 297-301.

[9] B.D. Whitaker, T. Solomos, D.J. Harrison. "Quantification of α -farnesene and its conjugated trienol oxidation products from apple peel by C-18-HPLC with UV detection." *J. Agric. Food Chem.*, 45, **1997**, 760-765.

[10] S. Lurie, A. Lers, Z. Shacham, L. Sonogo, S. Burd, B. Whitaker. "Expression of α -farnesene synthase AFS1 and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase HMG2 and HMG3 in relation to α -

farnesene and conjugated trienols in "Granny Smith" apples heat or 1-MCP treated to prevent superficial scald". *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 130, **2005**, 232-236.

[11] N. Mir, R. Perez, R.M. Beaudry. "A poststorage burst of 6-methyl-5-hepten-2-one (MHO) may be related to superficial scald development in "Cortland" apples". *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 124, **1999**, 173-176.

[12] D.D. Rowan, M.B. Hunt, S. Fielder, J. Norris, M.S. Sherburn. "Conjugated trienes oxidation products of α -farnesene induce symptoms of superficial scald on stored apples." *J. Agric. Food Chem.*, 49, **2001**, 2780-2787.

[13] N. Isidoro, D.P.F. Almeida. " α -farnesene, conjugated trienols, and superficial scald in 'Rocha' pear as affected by 1-methylcyclopropene and diphenylamine". *Postharvest Biol. Technol.*, 42, **2006**, 49-56.

[14] B.D. Whitaker. "Oxidation products of alpha-farnesene associated with superficial scald development in d'Anjou pear fruits are conjugated trienols." *J. Agric. Food Chem.*, 55, **2007**, 3708-3712.

[15] F.B. Abeles, P.W. Morgan, M.E. Saltveit Jr. "Chapter 6: Fruit Ripening, Abscission and Postharvest Disorders". *Ethylene in Plant Biology*. Ed. Academic Press. **1992**. 182- 221.

[16] M. Leontowicz, S. Gorinstein, H. Leontowicz, R. Krzeminski, A. Lojek, E. Katrich, M. Cíz, O. Martin-Belloso, R. Soliva-Fortuny, R. Haruenkit, S. Trakhtenberg, "Apple and pear peel and pulp and their influence on plasma lipids and antioxidant potentials in rats fed cholesterol-containing diets." *J. Agric. Food Chem*, 51, **2003**, 5780-5785.

[17] J. Giné Bordonaba, V. Matthieu-Hurtiger, P. Westercamp, C. Coureau, E. Dupille, C. Larrigaudière. "Dynamic changes in conjugated trienols during storage may be employed to predict superficial scald in 'Granny Smith' apples." *LWT-Food Sci. Technol.* 54, **2013**, 535-541.

[18] P.M. Chen, R.J. Varga, Y.Q. Xiao. "Inhibition of -farnesene biosynthesis and its oxidation in the peel tissue of 'd'Anjou' pears by low-O₂/elevated CO₂ atmospheres". *Postharvest Biol. Technol.* 3, **1993**, 215-223.

[19] G. Calvo, A.P. Candan. "Evaluación de distintos sistemas de almacenamiento para controlar la maduración y el desarrollo de escaldadura superficial en peras "Beurré d'Anjou". Informe Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Alto Valle, Rio Negro, Argentina. **2012**.

[20] G. Calvo, A.P. Candan, M. Civello, J. Giné-Bordonaba, C. Larrigaudière. "An insight into the role of fruit maturity at harvest on superficial scald development in 'Beurré D'Anjou' pear." *Sci. Hortic.*, 192, **2015**, 173-179.

[21] C. Larrigaudiere; A.P. Candan, J. Giné-Bordona, M. Civello, G. Calvo. "Unravelling the physiological basis of superficial scald in pears based on cultivar differences." *Sci. Hortic.*, 213, **2016**, 340-345.

[22] A.P. Candan. G. Calvo. "Tablas varietales: Test de degradación de almidón". Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Alto Valle, Rio Negro, Argentina. **2000**.

[23] E. Pesis, A. M. Ibáñez, M. L. Phu, E. J. Mitcham, S. E. Ebeler, A. M. Dandekar. "Superficial Scald and Bitter Pit Development in Cold-Stored Transgenic Apples Suppressed for Ethylene Biosynthesis." *J. Agric. Food Chem.* 57 7, **2009**, 2786-2792

[24] E.F.L.J. Anet, "Superficial scald, a functional disorder of stored apples. IX. Effect of maturity and ventilation." *J. Sci. Food Agric.*, 23, **1972**, 763-769.

[25] K. Misra, T.R. Seshadri. "Chemical components of the fruits of *Psidium guava*." *Phytochem.*, 7, **1968**, 641-645.

- [26] W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset. "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity." *LWT - Food Sci Technol*, 28 (1), **1995**, 25-30.
- [27] C.E. Benítez. "Cosecha y Poscosecha de Peras y Manzanas en los Valles Irrigados de la Patagonia". Ediciones INTA. General Roca, Río Negro, Argentina. INTA EEA Alto Valle. **2001**.
- [28] J.H. Ekman, M. Clayton, W.V. Biasi, E.J. Mitcham. "Interactions between 1-MCP concentration, treatment interval and storage time for "Bartlett" pears". *Postharvest Biol. Technol.* 31, **2004**, 127-136.
- [29] S.W. Pechous, B.D. Whitaker. "Cloning and functional expression of an (E,E)-farnesene synthase cDNA from peel tissue of apple fruit." *Planta*, 219, **2004**, 84-94.
- [30] V.E. Emongor, D.P. Murr, E.C. Loughheed. "Preharvest factors that predispose apples to superficial scald." *Postharvest Biol. Technol.*, 4, **1994**, 289-300.
- [31] S. Lurie, C.B. Watkins. "Superficial scald, its etiology and control." *Postharvest Biol. Technol.*, 65, **2012**, 44-60.
- [32] M. Knee, S.G.S. Hatfield. "Benefits of ethylene removal during apple storage." *Ann. Appl. Biol.*, 98, **1981**, 157-165.
- [33] S.M. Blankenship, D.G. Richardson. "Development of ethylene biosynthesis and ethylene-induced ripening in d'Anjou pears during the cold requirement for ripening." *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 110, **1985**, 520-523.
- [34] B.D. Whitaker, M. Villalobos-Acuña, E.J. Mitcham, J.P. Mattheis. "Superficial scald susceptibility and α -farnesene metabolism in 'Bartlett' pears grown in California and Washington." *Postharvest Biol. Technol.* 53, **2009**, 43-50.
- [35] G. Gallerani, G. Pratella, R. Budini. "The distribution and role of natural antioxidant substances in apple fruit affected by superficial scald." *Adv. Hortic. Sci.*, 4, **1990**, 144-146.
- [36] G. Calvo. *El escaldado superficial en pera "Beurré d'Anjou": etiología y desarrollo de sistemas de control*. Tesis doctoral Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Buenos Aires. **2016**.