



**Universidad Nacional del Comahue**  
**Facultad de Ciencias Agrarias**

**Evolución de poliaminas y capacidad antioxidante en frutos de  
manzana sometidos a estrés por elevada radiación solar**

**Trabajo de Tesis para optar al Título de Magister en Ciencias Agrarias y  
Biotecnología**

**Ing. Agr. Laura Inés Vita**

**Directora: Ing. Agr. Mg. Graciela M. Colavita**

**Codirector: Dr. Andrés Venturino**

**2018**



---

## AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Agrarias, al Dr. Christian López y al comité académico de la Maestría en Ciencias Agrarias y Biotecnología por darnos la posibilidad de realizar este posgrado.

A todos los profesores de la maestría tanto franceses, argentinos y chilenos, por brindarnos tan generosamente su conocimiento.

A mi directora, Ing. Agr. Mg. Graciela Colavita, por su sabiduría, generosidad, ánimo y confianza. Por guiarme y acompañarme en este proceso. Porque sin su amistad y cercanía, éste y otros sueños no hubieran sido posibles.

A mi co-director, Dr. Andrés Venturino por sus valiosas contribuciones en las técnicas de laboratorio y por su preciso aporte en la corrección del manuscrito.

Al Dr. Santiago Maiale por su generosidad, conocimiento y disponibilidad en la cuantificación de poliaminas en el INTECH. También al Dr. Oscar Ruiz y a su equipo, por poner a disposición su laboratorio y por hacernos sentir tan cómodos durante nuestra estadía.

Al Ing. Agr. Valentín Tassile por toda su colaboración y correcciones de los análisis estadísticos de los resultados.

A mis compañeros de maestría, por tantos gratos momentos compartidos durante dos años.

A mi futura colega Nidia González por su colaboración en los trabajos de laboratorio, pero sobre todo por su amistad.

A la Ing. Agr. Nazarena Spera por su intensa colaboración en la cuantificación de poliaminas en el INTECH, pero en especial por cuidarme tanto.

Al Ing. Agr. Michay Mantegna por su amistad, por el tiempo de estudio compartido en la maestría y por hacer que los trabajos en equipo fueran tan animados.

A la Dra. Cecilia Lascano por sus valiosos aportes para la extracción y cuantificación de poliaminas.

A la Técnica Vanesa Ascencio y la Dr. Gabriela Calvo del grupo poscosecha de INTA por capacitarnos en algunas de las técnicas bioquímicas utilizadas.

Al Ing. Agr. Carlos Franco y Diego Frisch de la empresa Wassington S.A.C.I.F.E.I y a la empresa Ecofrut S.A. por permitirme la utilización de las cámaras frigoríficas para la conservación de los frutos.

A mis amigos Nella, Miguel, Florencia y Agustín por su apoyo y ánimo permanente, por estar siempre.

A Silvia y Oscar por ayudarme a encontrar paz y armonía en medio de las dificultades y el cansancio.

A mis padres por inspirarme los valores del estudio, el trabajo, la responsabilidad y la perseverancia.

---

***“No te rindas  
que la vida es eso,  
continuar el viaje,  
perseguir tus sueños,  
destrabar el tiempo,  
correr los escombros  
y destapar el cielo”  
Mario Benedetti***

**A mis amores, Benjamín, Bianca y Pablo**

---

## RESUMEN

La región del Alto Valle de Río Negro presenta condiciones climáticas predisponentes para que los frutos de manzana desarrollen el desorden fisiológico denominado daño por sol. El factor estresante fundamental para el desarrollo de este desorden fisiológico lo constituye la elevada radiación solar que provoca un desbalance entre la producción de especies reactivas de oxígeno y los mecanismos antioxidantes en la piel de los frutos. Las poliaminas (PAs), en especial la Putrescina (Put), la Espermidina (Spd) y la Espermina (Spm) han sido evaluadas dentro de los mecanismos de respuesta antioxidante vegetal bajo condiciones ambientales adversas. En frutos de manzana no existen estudios que relacionen el efecto del estrés oxidativo por elevada radiación solar, el contenido de PAs y su influencia sobre otras fisiopatías durante la conservación en frío. A fin de estudiar estos aspectos se evaluaron frutos de los cultivares de manzana Gala, Golden Delicious, Red Delicious, Fuji, Granny Smith y Cripp's Pink, en el estado de madurez. Asimismo, los dos últimos fueron estudiados durante el período de conservación refrigerada. En todos los cultivares se seleccionaron, durante la cosecha comercial, frutos que presentaran un sector de piel con daño por sol leve (DS-1) y un sector con piel sana (S). En ambos tejidos se evaluó el contenido de PAs libres, el metabolismo oxidativo y el desarrollo de las fisiopatías escaldado por sol y escaldadura superficial durante 180 días de conservación refrigerada. El estrés por elevada radiación solar incrementó el contenido de PAs en piel de frutos, de forma diferencial según el cultivar de manzana considerado. En el tejido DS-1 del cultivar Red Delicious el mayor aumento se registró en Put, y en menor proporción Spd y Spm. Mientras que en Fuji, Granny Smith y Cripp's Pink se registraron aumentos significativos de Spd y Spm exclusivamente. Por otro lado los cultivares Gala y Golden Delicious presentaron una escasa variación del contenido de PAs en DS-1 respecto a S. El incremento en el contenido de PAs y de la capacidad antioxidante en el sector DS-1 detectada en el estado de madurez de todos los cultivares no evitó la mayor peroxidación lipídica y la expresión de los síntomas de daño por sol en este tejido. Durante la conservación refrigerada la evolución del contenido de PAs presentó diferencias según el cultivar y el tejido considerado. El tejido S de los cultivares Granny Smith y Cripp's Pink presentó incrementos significativos de Put. En Cripp's Pink se detectó además un aumento en el contenido de Spd y Spm. Por otra parte, en el tejido DS-1 de Granny Smith no se produjeron variaciones en el contenido de PAs, mientras que en Cripp's Pink se detectaron incrementos significativos de Spd y Spm. La mayor capacidad antioxidante alcanzada en el estado de madurez en el tejido DS-1 de ambos cultivares se mantuvo durante los 180 días de conservación. Asimismo las condiciones de almacenaje refrigerado provocaron alteraciones en el metabolismo oxidativo de los tejidos estudiados, representado por un incremento de la capacidad antioxidante y/o de la peroxidación de lípidos. Dichas condiciones promovieron el desarrollo significativo de escaldado de sol y escaldado superficial exclusivamente en Granny Smith. En DS-1 de este cultivar se observó escaldadura de sol a partir de los 90 días de conservación, lo que indica que la mayor capacidad antioxidante en este tejido no fue suficiente para evitar esta fisiopatía. El aumento del contenido de Put durante la conservación en S de Granny Smith tampoco permitió aliviar las condiciones de estrés oxidativo que generan escaldadura superficial, la cual se registró sobre este tejido a partir de los 120 días de almacenaje. Por otra parte, en Cripp's Pink se observó baja incidencia de escaldadura de sol en el tejido DS-1 luego de 150 días de conservación y no se detectó escaldadura superficial en S. La mayor capacidad antioxidante y el incremento de Put, Spd y Spm en el tejido con DS-1 en Cripp's Pink durante la conservación refrigerada estuvieron asociadas con baja ocurrencia

---

de escaldado por sol en este cultivar. El aumento de Put, Spd y Spm en el tejido S de Cripp's Pink durante la conservación en frío contribuyó a la tolerancia al escaldado superficial de este cultivar. En función de los resultados de esta tesis es necesario profundizar los estudios del metabolismo de las PAs en frutos de manzana bajo situaciones de estrés por alta radiación solar y su influencia en la variabilidad de respuestas que presentan los diferentes cultivares frente a las condiciones a los que son sometidos durante la conservación en frío.

---

## ABSTRACT

Río Negro Upper Valley presents predisposing climatic conditions for the development of apple physiological disorder called sunburn. The main factor intervening in this physiological disorder development is high solar radiation, which causes imbalance between reactive oxygen species production and antioxidant mechanisms in fruit skin. Polyamines (PAs), especially Putrescine (Put), Spermidine (Spd) and Spermine (Spm) have been evaluated within the mechanisms of plant antioxidant response under adverse environmental conditions. There are no studies in apples that relate oxidative stress caused by high solar radiation and PAs content and their influence on other physiological disorders during cold storage. In order to study these aspects, apple fruits of Gala, Golden Delicious, Red Delicious, Fuji, Granny Smith and Cripp's Pink cultivars were evaluated at maturity state. The last two cultivars were also studied during cold storage period. At commercial harvest fruits with a slight sunburn side (DS-1) and a healthy side (S) were selected in all the cultivars. In both tissues, free PAs content, oxidative metabolism and physiological disorders as sunscald and superficial scald were evaluated during 180 days of cold storage. High solar radiation stress increased PAs level in fruit peel dependent to cultivar. In DS-1 Red Delicious tissue, Put increased significantly followed by Spd and Spm. In Fuji, Granny Smith and Cripp's Pink there were significant increases of Spd and Spm exclusively. On the other hand, small differences in PAs level were found in DS-1 in contrast to S in Gala and Golden Delicious cultivars. PAs and antioxidant capacity increases in DS-1 side detected at maturity stage in all cultivars did not avoid lipid peroxidation increase and sunburn symptoms in this tissue. During cold storage, PAs content evolution differed according to the cultivar and the tissue considered. Granny Smith and Cripp's Pink S tissues displayed significant Put increases. Cripp's Pink also increased Spd and Spm content. Granny Smith DS-1 tissue did not modify its PAs level, whereas Cripp's Pink increased significantly Spd and Spm content. The highest antioxidant capacity that had been reached at maturity state in both cultivars DS-1 tissue remained 180 cold storage days. Cold storage conditions caused oxidative metabolism changes in all tissues, increasing their antioxidant capacity or lipid peroxidation or both parameters together. Such conditions also promoted sunscald and superficial scald development only in Granny Smith tissues. Sunscald in Granny Smith DS-1 tissue was observed after 90 days of storage, suggesting that the higher antioxidant capacity found in this tissue was not enough to avoid its development. Put content increase in Granny Smith S peel during storage did not alleviate oxidative stress conditions which produced superficial scald, after 120 days of cold storage. On the other hand, Cripp's Pink showed a low sunscald incidence in DS-1 tissue after 150 days of storage and no superficial scald was detected in S. Higher antioxidant capacity and Put, Spd and Spm increases in Cripp's Pink DS-1 tissue during cold storage could be related to low sunscald development in this cultivar. Put, Spd and Spm increases in Cripp's Pink S tissue could contribute to superficial scald tolerance in this cultivar. Based on this thesis results, it is necessary to continue PAs metabolism studies in apple fruits under high solar radiation stress and their influence on different cultivars responses during cold storage conditions.

---

## RÉSUMÉ

L'Alto Valle de Rio Negro présente des conditions climatiques prédisposant à développer appelé les dommages du soleil, a désordre physiologique des fruits de pomme. Le facteur de stress critique pour le développement de ce désordre constitue le rayonnement solaire élevé qui provoque un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et des mécanismes antioxydants dans la peau du fruit. Polyamines (PAs), en particulier putrescine (Put), la spermidine (Spd) et la spermine (Spm) ont été évalués dans le cadre des mécanismes de réponse antioxydant végétal dans des conditions environnementales défavorables. Dans les fruits de la pomme, il n'y a aucune étude reliant l'effet du stress oxydatif par une forte radiation solaire, le PAs contenu et leur influence sur d'autres physiologique désordre le stockage à froid. Afin d'étudier ces aspects, les fruits des cultivars de pomme Gala, Golden Delicious, Red Delicious, Fuji, Granny Smith et Cripp's Pink ont été évalués à maturité. En outre, les deux derniers ont été étudiés au cours de l'entreposage frigorifique. Pendant la récolte commerciale, tous les cultivars ont été sélectionnés au cours des fruits fruits qui avaient une partie de la peau avec les dommages du soleil doux (DS-1) et un secteur avec une peau saine (S). Dans les deux tissus, a été évaluée le contenu des PAs libres, le métabolisme oxydatif et de développement de l'échaudure superficielle et l'échaudure du soleil, pendant 180 jours de stockage réfrigéré. Le stress élevé rayonnement solaire a augmenté la PAs teneur dans la peau de fruits, selon différenciellement le cultivar de pomme considéré. Dans le tissu Red Delicious DS-1 l'augmentation a été la plus grande Put, et dans une moindre mesure Spd et Spm. Alors que dans Fuji, Granny Smith et Cripp's Pink une augmentation significative de Spm ont été enregistrées exclusivement. De plus, les cultivars Gala et Golden Delicious ont peu de variation dans le contenu des PAs dans DS-1 en une comparaison à S. La respecter augmentation de la teneur des PAs et la capacité antioxydante dans les secteurs DS-1 détectée dans l'état de maturité de tous les cultivars n'a pas empêché la plupart peroxydation des lipides et l'expression des symptômes de dommages dus au soleil dans ce tissu. L'évolution pendant le stockage à froid le PAs, il a présenté des différences selon le cultivar et le tissu. Les tissus S Granny Smith et Cripp's Pink ont présenté une augmentation significative de Put. Cependant, dans Cripp's Pink il a également été détecté une augmentation de la teneur des Spd et Spm. En outre, dans le tissu DS-1 Granny Smith il n'y avait pas de changement dans le contenu des PAs, alors une augmentation significative Spd et Spm ont été détectés dans Cripp's Pink. La plus élevée capacité antioxydante obtenue à maturité dans le tissu DS-1 dans les deux cultivars a été maintenue pendant 180 jours de stockage. Aussi les conditions de stockage de froid a entraîné des modifications dans le métabolisme oxydatif des tissus étudiés, représentés par une augmentation de la capacité antioxydante et la peroxydation des lipides. Ces conditions favorisé le développement significatif du échaudure du soleil et échaudure superficielle exclusivement sur Granny Smith. Dans DS-1 de ce cultivar échaudure du soleil a été observée après 90 jours de stockage, ce qui indique que la capacité antioxydante la plus élevée dans ce tissu n'a pas été suffisante pour éviter ce désordre physiologique. Amélioration du contenu de Put pendant le stockage en S de Granny Smith pas permis d'atténuer les conditions de stress oxydatif généré échaudage superficielle, qui a été enregistré sur ce tissu après 120 jours de stockage. De plus, en Cripp's Pink été observée faible incidence du échaudage du soleil dans le tissu DS-1 après 150 jours la conservation et il n'a pas été détecté échaudage superficielle dans S. La plus grande capacité antioxydante et une augmentation du Spd et Spm avec Cripp's Pink DS-1 pendant le stockage réfrigéré peut être lié à la faible occurrence de échaudage du soleil dans ce cultivar. L'augmentation de Put, Spd et Spm dans le tissu S de Cripp's

---

Pink au cours du stockage à froid pourrait contribuer à la tolérance au échaudure superficielle de ce cultivar. En fonction des résultats de cette thèse est nécessaire d'approfondir les études sur le métabolisme des PAs dans les fruits de la pomme développé dans des conditions de une forte radiation solaire et son influence sur la variabilité des réponses montrant les fruits contre les conditions auxquelles ils sont soumise au cours du stockage à froid.

---

Algunos de los resultados obtenidos en este trabajo de tesis se publicaron parcialmente en las siguientes reuniones científicas y revistas científicas/tecnológicas Internacionales:

**Reuniones Científicas:**

Colavita Graciela, Mantegna Michay, Vita Laura, Calvo Gabriela. Efecto de 1-MCP en la conservación de frutos de manzana con daño por sol. VII Jornadas Argentinas de Biología y Tecnología Postcosecha. La Plata 28-30 de mayo de 2014

Del Brio Dolores, Vita Laura Inés, Civello Pedro Marcos, Colavita Graciela María. Capacidad antioxidante en manzanas con diferente intensidad de daño por sol. XV Congreso Latinoamericano de Fisiología Vegetal - XXX Reunión Argentina de Fisiología Vegetal, Mar del Plata, Argentina, del 21 al 24 de septiembre de 2014.

Vita, L. I., Gonzalez, N. F., y Colavita, G. M. Effect of preharvest solar radiation on apple skin oxidative disorders during cold storage. Proc. III International Symposium on Postharvest Pathology: Using Science to Increase Food Availability. Bari, Italia. 7-11 de junio de 2015.

Colavita, G. M. Vita, L. I., Gomila T. Civello M. Changes in antioxidants components during coldstorage on apple (*Malus domestica*, cv. Granny Smith) grown under different solar radiation. Proc. III International Symposium on Postharvest Pathology: Using Science to Increase Food Availability. Bari, Italia. 7-11 de junio de 2015.

Vita L.I., Maiale S., Spera N., y Colavita G.M. Changes in polyamine levels on sunburn apple skin. I International Apple Symposium, Yangling, Shaanxi, China. 10-16 de Octubre de 2016.

Vita L.I., Maiale S., Tassile V., y Colavita G.M. Effect of high solar radiation on polyamines levels on apple exocarp. IIXX Reunión de la Sociedad Española de Fisiología Vegetal. Barcelona – España. 26 al 29 de Junio de 2017

---

Colavita G., Mondaca X., Vita L. Reducción en la conservaci3n de manzanas debido a estr3s por elevada radiaci3n solar durante el desarrollo. I Congreso Argentino de Biolog3a y Tecnolog3a Poscosecha. IX Jornadas Argentinas de Biolog3a y Tecnolog3a Poscosecha. Concordia, Entre R3os. 25 al 27 de Octubre de 2017.

Vita L.I., Colavita G.M. Comportamiento de manzanas Granny Smith con s3ntoma de "blush" durante la conservaci3n refrigerada. I Congreso Argentino de Biolog3a y Tecnolog3a Poscosecha. IX Jornadas Argentinas de Biolog3a y Tecnolog3a Poscosecha. Concordia, Entre R3os. 25 al 27 de Octubre de 2017.

**Publicaciones:**

Vita, L. I., Gonz3lez, N. F., y Colavita, G. M. Effect of preharvest solar radiation on apple skin oxidative disorders during cold storage. Acta Hort. 1144. ISHS 2016. DOI 10.17660/ActaHortic.2016.1144.48.

Vita L.I., Maiale S., Spera N., y Colavita G.M. Changes in polyamine levels on sunburn apple skin. Acta Hort. (Aceptado, en prensa).

---

## ABREVIATURAS

ABA	Ácido abscísico
ACC	Ácido 1-aminociclopropil 1-carboxílico
ADC	Arginina descarboxilasa
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AF	$\alpha$ -Farneseno
AFS	$\alpha$ -Farneseno sintasa
AIH	Agmatina-imino hidrolasa
AMV	Ácido mevalónico
ARN	Ácido ribonucleico
ATP	Adenosín trifosfato
DAO	Diamino oxidasa
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPA	Difenilamina
DPPH	2,2, difenil-2-picril-hidrazil
DS-1	Piel con daño por sol grado 1
EROs	Especies reactivas de oxígeno
FAD	flavin-adenindinucleótido
FDF	Farnesil difosfato
FDS	Farnesil difosfato sintasa
GDF	Geranil difosfato
GABA	Ácido $\gamma$ -aminobutírico
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA
HMGR	3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa
HNE	4-hidroxi-2 nonenal
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
Htd	Heptanodiamina
IPDF	Isopentenil difosfato
LHC II	Complejo colector de luz II
1-MCP	1-metoxiciclopropeno
MHO	6-metil-5 hepten-2
ODC	Ornitina descarboxilasa

---

PA	Poliamina
PAO	Poliamina oxidasa
PAR	Radiación fotosintéticamente activa
PAs	Poliaminas
PF	Peso fresco de tejido
Put	Putrescina
S	Piel sana
SAM	S-adenosilmetionina
SAMDC	S-adenosilmetionina descarboxilasa
Spd	Espermidina
SPDS	Espermidina sintasa
Spm	Espermina
SPMS	Espermina sintasa
TBAR	Ácido tiobarbitúrico
TBARs	Especies reactivas al ácido tiobarbitúrico
TC	Trieno conjugado
UV	Ultravioleta

---

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	5
<b>1.1 El cultivo de manzana en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén</b> .....	5
1.1.1 Producción regional de manzanas .....	5
1.1.2 Cultivares de manzana en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén .....	6
1.1.3 Caracterización climática regional .....	9
<b>1.2 Daño por sol en frutos de manzano</b> .....	10
1.2.1 Caracterización del daño por sol en manzanas .....	10
1.2.2 Factores que inducen el daño por sol e incidencia en la producción frutícola .....	12
1.2.3 Evolución del daño por sol en frutos durante la conservación .....	14
<b>1.3 Estrés oxidativo por alta radiación solar</b> .....	16
1.3.1 Formación de especies reactivas de oxígeno en frutos de manzana sometidos a elevada radiación solar .....	16
1.3.2 Respuesta antioxidante y estrés fotooxidativo .....	17
1.3.3 Daño oxidativo de las EROs a las biomoléculas .....	18
<b>1.4 Estrés oxidativo por bajas temperaturas de conservación</b> .....	21
1.4.1 Escaldado superficial en frutos de manzana .....	21
1.4.2 Condiciones asociadas al escaldado superficial en frutos de manzana .....	22
1.4.3 Proceso bioquímico del escaldado superficial .....	23
1.4.4 Importancia económica y métodos de control .....	26
<b>1.5 Poliaminas</b> .....	28
1.5.1 Poliaminas en plantas .....	28
1.5.2 Regulación interna de poliaminas: biosíntesis, degradación, conjugación y transporte .....	30
1.5.3 Poliaminas en el desarrollo y crecimiento de las plantas .....	34
1.5.4 Estrés abiótico y metabolismo de poliaminas .....	36
1.5.5 Estrés oxidativo y metabolismo de poliaminas .....	40

---

1.5.6 Rol de las poliaminas durante la poscosecha y conservación de frutos -----	41
<b>2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO -----</b>	<b>43</b>
<b>3. HIPÓTESIS -----</b>	<b>45</b>
<b>4. OBJETIVOS -----</b>	<b>46</b>
4.1 Objetivo general -----	46
4.2 Objetivos específicos -----	46
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS -----</b>	<b>47</b>
5.1. Material vegetal -----	47
5.2 Período de evaluaciones y acondicionamiento de la fruta -----	48
5.3 Evaluaciones de índices de calidad -----	48
5.3.1 Firmeza de pulpa -----	49
5.3.2 Sólidos solubles y acidez titulable -----	49
5.3.3 Test de degradación de almidón -----	49
5.4 Determinaciones bioquímicas -----	50
5.4.1 Clorofila a y b -----	50
5.4.2 Poliaminas libres -----	50
5.4.3 Peroxidación de lípidos -----	52
5.4.4 Capacidad antioxidante -----	52
5.4.5 $\alpha$ -Farnesenos y trienos conjugados -----	53
5.5 Evaluación de desórdenes fisiológicos durante la conservación en frío -----	54
<b>6. RESULTADOS -----</b>	<b>57</b>
6.1 Contenido de poliaminas en la piel de frutos con daño oxidativo por alta radiación solar -----	57

---

6.1.1 Caracterización físico-química de los tejidos	57
6.1.2 Contenido de poliaminas	60
6.1.3 Agrupamiento de cultivares según contenido de poliaminas	63
<b>6.2 Evolución de la concentración de poliaminas y compuestos antioxidantes durante la conservación en frío en frutos de manzana con síntomas de estrés por alta radiación solar</b>	<b>67</b>
6.2.1 Caracterización físico-química de los tejidos	67
6.2.2 Contenido de poliaminas	69
6.2.3 Metabolismo oxidativo	73
<b>6.3 Desarrollo de fisiopatías de poscosecha</b>	<b>76</b>
6.3.1 Escaldado por sol	76
6.3.2 Escaldado superficial	80
<b>7. DISCUSIÓN</b>	<b>84</b>
7.1 El daño por sol altera los índices de calidad en frutos de manzana	84
7.2 El estrés por alta radiación solar produce un aumento de la concentración de poliaminas en la piel de manzana	88
7.3 La modificación del contenido de poliaminas a causa del estrés por alta radiación solar condiciona el agrupamiento de los cultivares de manzana	91
7.4 La capacidad antioxidante en la piel de frutos manzana se incrementa bajo condiciones de estrés por elevada radiación solar	94
7.5 El mayor contenido de poliaminas en la piel de frutos de manzana sometidos a elevada radiación solar no evita el estrés oxidativo y la manifestación del daño por sol	95
7.6 El estrés por elevada radiación solar durante el desarrollo de frutos de manzana condiciona la evolución de los índices de calidad en la conservación en frío	96
7.7 La concentración de poliaminas en piel de manzana durante la conservación en frío presenta variaciones según el cultivar y el nivel de daño por sol	99
7.8 El incremento de poliaminas y de la capacidad antioxidante durante la conservación no evitan la peroxidación de lípidos en piel de Granny Smith y Cripp's Pink	100

---

<b>7.9 El desarrollo de fisiopatías de poscosecha en piel de frutos de manzana presenta variaciones según el contenido de poliaminas y la capacidad antioxidante de los diferentes cultivares y tejidos estudiados</b> .....	102
7.9.1 Escaldadura por sol .....	103
7.9.2 Escaldadura superficial .....	104
<b>8. CONCLUSIONES</b> .....	108
<b>9. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	112

---

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 El cultivo de manzana en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén

### 1.1.1 Producción regional de manzanas

Argentina produce en promedio 1,8 millones de toneladas anuales de fruta de pepita, distribuidas casi por partes iguales entre manzana y pera según lo informado por el Ministerio de Agroindustria (2016). El 85% de la producción de manzana y el 75% de pera se concentran en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén y en el Valle Medio de Río Negro (Colamarino, 2010).

El Alto Valle de Río Negro y Neuquén es una unidad económica-productiva con un sector en la Provincia del Neuquén y otro en Río Negro. Se trata de un valle donde la confluencia de los ríos Neuquén y Limay da origen al río Negro (Figura 1). Se encuentra limitado en ambos lados por barrancas de formación sedimentaria y se extiende a lo largo de 65 km junto al río Neuquén, 50 km a lo largo del Limay y 120 km aguas abajo de la confluencia (Sánchez y Villareal, 2012).



**Figura 1.** Zonas productoras de frutas de pepita en Río Negro y Neuquén. Extraído de Toranzo (2016).

La fruticultura es una de las principales actividades económicas de la región, donde tiene una larga tradición ya que sus inicios se remontan a principios del siglo XX (MECON, 2014).

Según datos de la Fundación Barrera Zoofitosanitaria Patagónica para el período 2008/2012 la producción comercial de manzanas alcanzó las 785.000 tn. Del volumen citado, se destina al consumo en fresco el 54% y el 46% al proceso de industrialización (Secretaría de Fruticultura, 2013).

En Argentina, el alto porcentaje de manzanas que es industrializado refleja los problemas de calidad e inserción en el mercado de fruta fresca. Estos productos (jugos, sidras, etc.) aparecen ya que el sistema productivo no alcanza los niveles mínimos de eficiencia ni de calidad, lo que genera un porcentaje elevado de descarte de fruta (MECON, 2014).

### 1.1.2 Cultivares de manzana en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén

La superficie cultivada de manzanas en la Patagonia Norte es de 21.400 ha distribuidas en diferentes cultivares según se indica en la Figura 2. Red Delicious y sus clones es el cultivar con mayor superficie en la región, seguida por Gala y sus clones, Granny Smith y Cripp's Pink y otros cultivares de menor relevancia (SENASA, 2015).

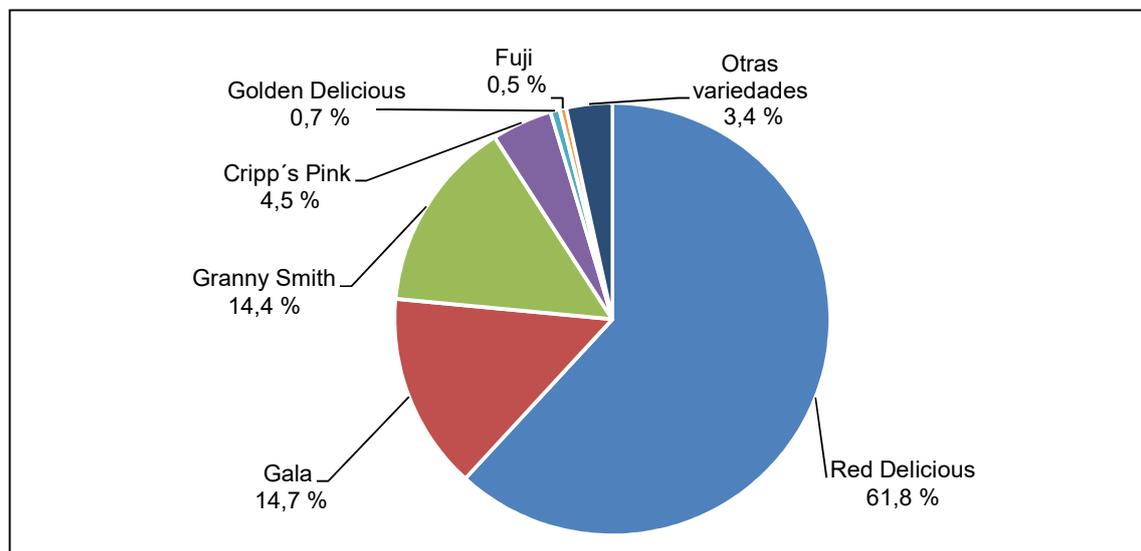
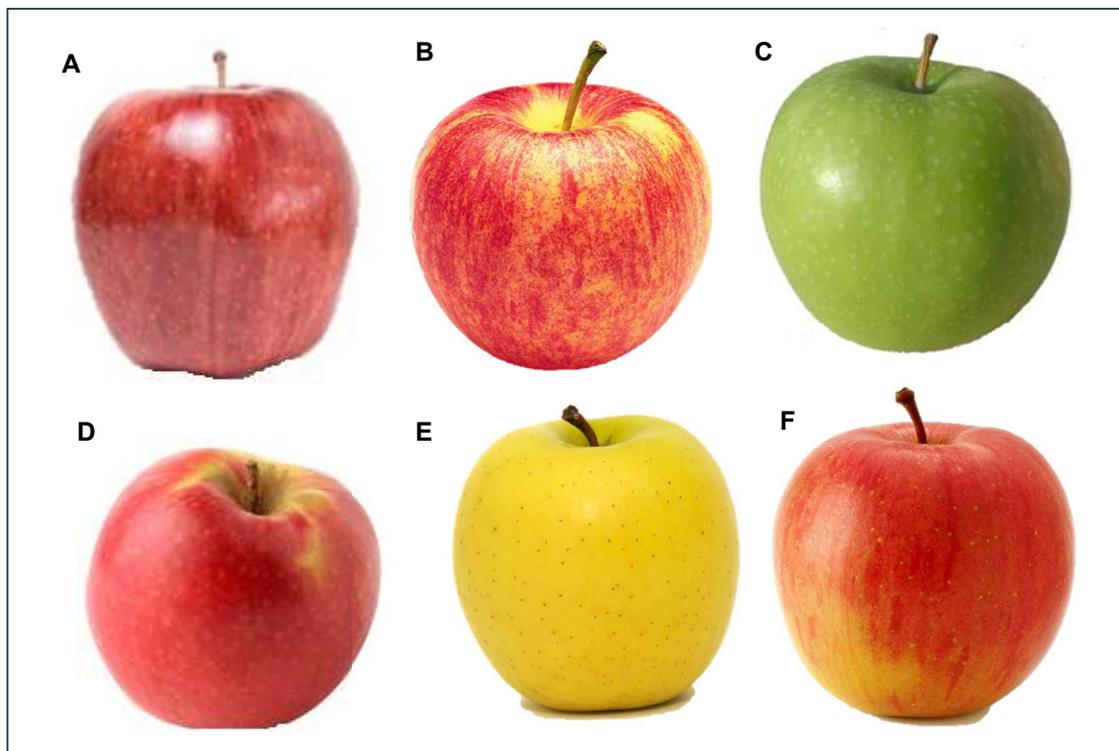


Figura 2. Superficie implantada de manzana por cultivar en Patagonia Norte. Fuente: SENASA (2015).

---

El origen de las manzanas Red Delicious se remonta al año 1879. Fue descubierta en los Estados Unidos, donde en 1915 apareció una mutación roja lisa que se denominó Richared Delicious y en 1926 otra mutación roja estriada a la que se llamó Starking Delicious. Esta última tuvo una mayor difusión y fue cultivada en el mundo entero. Desde los comienzos de la fruticultura regional y aún en la actualidad, es la variedad más importante cultivada en el país, donde al igual que en otras áreas de cultivo, se la conoce como Red Delicious. El fruto es tronco-cónico con cinco lóbulos bien marcados (Foto 1 A). La piel es de color verde con estrías rojo brillante en gran parte de la superficie. La coloración de superficie es heterogénea y más intensa en los frutos más expuestos al sol (Benítez, 2001).



**Foto 1.** Cultivares de manzana de relevancia regional. A: Red Delicious; B: Gala; C: Granny Smith; D: Cripp's Pink; E: Golden Delicious; F: Fuji.

El cultivar Gala fue obtenido en Nueva Zelanda en 1939, por cruzamiento entre Kidd's Orange Red y Golden Delicious. Es muy vigoroso a medianamente vigoroso, muy productivo y de rápida entrada en producción. El fruto es de forma tronco-cónica, con el cáliz cerrado y el pedúnculo largo. El color de fondo, que al principio es verde claro, se

---

vuelve casi blanco cuando se acerca el momento óptimo de cosecha y luego se va tornando más amarillo a medida que avanza la madurez (Foto 1 B). La intensidad y el porcentaje de superficie cubierta de rojo dependen del clon, de las condiciones agroecológicas del cultivo y de la posición de los frutos en el árbol (Benítez, 2001).

Granny Smith es originaria de Nueva Gales del Sur, Australia, hacia mediados del siglo XIX. Es la tercera variedad más difundida en el mundo, luego de Red Delicious y Golden Delicious. La piel es verde intenso, con lenticelas blancas bien visibles. A veces puede aparecer un color rojizo sobre la cara expuesta a la luz solar en regiones de alta insolación con amplitud térmica muy marcada (Foto 1 C) (Benítez, 2001).

Cripp's Pink se comercializa con el nombre de Pink Lady y es producto de un cruzamiento entre Lady Williams y Golden Delicious, obtenida por John L. Cripp's en 1979, en la Horticultural Research Station of Stoneville, Australia. De rápida entrada en producción y poco sensible a la alternancia productiva (añerismo), no se adapta a regiones de estación corta de crecimiento porque es la más tardía de las variedades actualmente en cultivo. El fruto es de un característico color rosado brillante que se extiende del 25 al 75 % de la superficie, sobre fondo verde claro que vira a amarillo en la madurez (Foto 1 D) (Benítez, 2001).

Golden Delicious es originaria de USA, donde fue descubierta hacia fines del siglo XIX. En algunos países ocupa un lugar preponderante en la producción nacional de manzanas y en otros como en la Argentina, ha ido perdiendo participación en forma paulatina. El fruto es tronco-cónico regular y alargado, con un peso medio de 190 a 210 gramos. La piel es verde amarillenta a amarillo dorado, a veces con una cara rosada, particularmente sobre frutos de plantas jóvenes (Foto 1 E) (Benítez, 2001).

El cultivar Fuji fue obtenido en 1939 por la National Fruit Research Station de Morioka, Japón, por cruzamiento entre Ralls Janet y Red Delicious. En la región de Alto Valle florece la última semana de septiembre. Se adapta a zonas de largo ciclo vegetativo y buenas condiciones para la coloración. El fruto es redondo, de mediano a grande, de 200 a 250 gramos de peso. La piel es de color rojo brillante de aparición tardía, sobre el 25 al 50% de la superficie del fondo verde claro (Foto 1 F) (Benítez, 2001).

---

### **1.1.3 Caracterización climática regional**

La región del Alto Valle se caracteriza por tener una temperatura media anual de 15°C. Enero es el mes más caluroso con temperaturas medias de 23,6°C y máximas medias de 31,1°C. Durante el mes de julio la temperatura media es de 8,6°C con una máxima media de 13,1°C. La región tiene una marcada amplitud térmica propia de su carácter continental. Las necesidades de frío invernal de los frutales de hoja caduca son normalmente satisfechas, alcanzando valores superiores a 1200 horas. El período medio libre de heladas es de 174 días (Rodríguez y Muñoz, 2006).

En la región, se registran una precipitación media anual de 197,7 mm (Rodríguez y Muñoz, 2006) y heladas primaverales que frecuentemente afectan los cultivos de pepita y carozo. Estas condiciones exigen la implementación de medidas activas (riego por aspersión, uso de calefactores) o pasivas (riego por manto sobre suelo desnudo) para su control (Toranzo, 2016)

Los vientos predominantes son de los cuadrantes oeste y sudoeste, con mayor frecuencia en primavera-verano. Su intensidad obliga a la utilización de cortinas rompevientos, para la cual se utilizan tradicionalmente diferentes especies de álamos (Toranzo, 2016).

La región se caracteriza por tener altos valores de radiación global ( $1260\text{W/m}^2$ )<sup>1</sup> y de insolación. El fotoperíodo tiene su valor máximo en diciembre con 15,9 horas y disminuye paulatinamente hasta junio, con un valor de 10,4 horas (Rodríguez y Muñoz, 2006).

La intensa radiación en conjunto con las altas temperaturas que se registran en la región provocan asoleado o daño por sol tanto en manzanas como peras (Colavita et al., 2005). Los frutos que desarrollan este desorden durante su crecimiento tienen mayor predisposición a desarrollar fisiopatías durante el almacenamiento en poscosecha (Tartachnyk et al., 2012). Por lo tanto, a nivel mundial, el daño por sol es un desorden de suma importancia para los productores de fruta, ya que puede llegar a provocar hasta un 50-56% de pérdidas económicas por descarte de manzanas para exportación (Wand et al., 2006; Colavita, 2008; Yuri et al., 2008).

---

<sup>1</sup>Dato de la Estación meteorológica de la Facultad de Ciencias Agrarias, mes de enero. Período analizado 1972-2002.

---

## 1.2 Daño por sol en frutos de manzano

Desde principios del siglo XIX existen evidencias escritas sobre los daños producidos en manzanas a causa de la radiación solar. Descripciones de los diferentes cultivares de manzana en el 'Royal Horticultural Society of England' señalan el daño producido por el sol en los frutos de esta especie. El reporte de Barry de 1877 en Oregón, Estados Unidos, es probablemente el primer registro específico de asoleado en manzanas debido a la radiación solar excesiva (Racskó y Schrader, 2012). La información sobre este desorden es extensa y en cierta medida confusa, debido a que los términos 'sunburn' (asoleado) y 'sunscald' (escaldado por sol) se han usado en forma indistinta, a pesar de tener dos significados diferentes (Schrader et al., 2001).

Sibbet et al. (1991) definieron 'sunburn' como el daño producido en los frutos debido a la excesiva radiación solar coincidiendo con lo propuesto por la Sociedad Americana de Fitopatología (Jones y Aldwinckle, 1990). Por otro lado, se limitó el término 'sunscald' a la fisiopatía que desarrollan durante la conservación en frío los frutos que previamente estuvieron expuestos a elevada radiación solar.

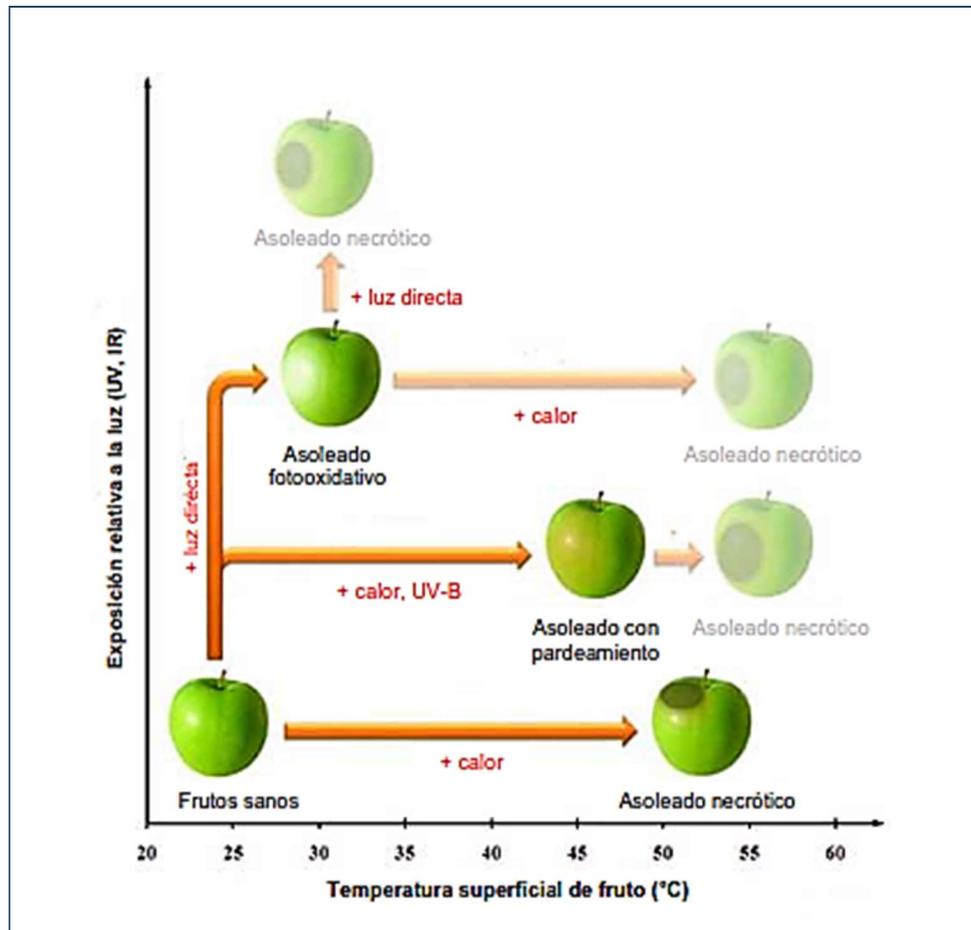
Investigaciones realizadas en la Universidad del Estado de Washington, durante los últimos 25 años han permitido clasificar y caracterizar este desorden en forma más precisa y sistemática.

### 1.2.1 Caracterización del daño por sol en manzanas

Se identificaron tres tipos distintos de asoleado o daño por sol en frutos de manzana. Schrader et al. (2001) caracterizaron al asoleado necrótico y al asoleado con pardeamiento. Luego, Felicetti y Schrader (2008) describieron al asoleado fotooxidativo. En la Figura 3 se indican las condiciones necesarias para la formación de los tres tipos de daño por sol.

El asoleado necrótico es el tipo de daño solar más fácilmente identificable, presenta una mancha negra o marrón, necrótica, en la superficie del fruto expuesta a la radiación solar. Ocurre cuando la temperatura superficial del fruto alcanza los  $52 \pm 1^\circ\text{C}$  durante, por lo menos, 10 minutos (Schrader et al., 2001) y puede producirse a través de la exposición al sol, o en forma experimental en oscuridad (Racskó y Schrader, 2012). Estos síntomas se han detectado en diversas variedades estudiadas como Gala, Golden Delicious y Jonagold. El tejido dañado involucra algunos milímetros hasta varios

centímetros de pulpa por debajo de la superficie expuesta. Debido al daño severo que se produce en la piel, el ingreso de patógenos se ve favorecido en el área afectada (Racskó et al., 2005b).



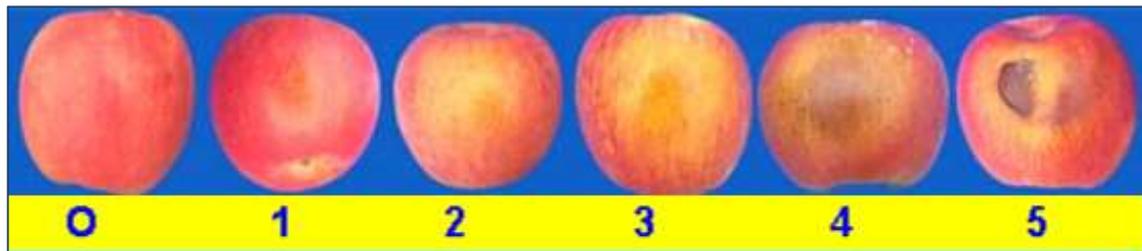
**Figura 3.** Condiciones para la formación de los tres tipos de asoleado en frutos de manzana. Adaptado de Racsko y Schrader (2012).

La clase más común de daño por sol es el asoleado con pardeamiento y ocurre en frutos de manzana expuestos en forma conjunta a la radiación solar y a una determinada temperatura superficial de fruto umbral por 60 minutos (Schrader et al., 2001). En este tipo de desorden se observa una mancha amarilla, marrón o color bronce en la cara del fruto expuesta a la radiación solar. El asoleado con pardeamiento no causa serios cambios estructurales en la cutícula o en los tejidos epidérmicos o subepidérmicos. Para evaluar y describir la severidad, basado en la apariencia externa, Schrader et al. (2003)

---

desarrollaron un sistema de clasificación que incluye frutos sanos, frutos con pardeamiento (daño leve hasta daño severo) y frutos con asoleado necrótico (Figura 4).

En los países del hemisferio sur, donde la radiación ultravioleta es más alta, es posible que la temperatura ambiental para la inducción del asoleado con pardeamiento sea más baja que la registrada en las investigaciones realizadas en el estado de Washington (Racskó y Schrader, 2012).



**Figura 4.** Grados de daño en manzanas. 0, frutos sanos; 1-4, asoleado con pardeamiento desde menor a mayor severidad; 5, asoleado necrótico. Extraído de Schrader et al. (2003).

Felicetti y Schrader (2008), caracterizaron a un tercer tipo de asoleado en frutos denominado asoleado fotooxidativo. El primer síntoma es una mancha blanca que aparece en frutos de manzano que han desarrollado a la sombra y en forma repentina son expuestos a plena radiación solar. Estos frutos no están aclimatados ya que han estado cubiertos por hojas u otros frutos, dentro de un dardo o ubicados en el interior de la canopia. Esta exposición repentina en la planta puede ocurrir luego de un raleo o cosecha selectiva o podas de verano. Los frutos cosechados en bins y expuestos a la radiación en campo durante el tránsito a la planta de empaque también son susceptibles a este daño.

### **1.2.2 Factores que inducen el daño por sol e incidencia en la producción frutícola**

La radiación solar y la temperatura han sido identificadas como los factores directos responsables de la formación del asoleado en fruto de manzana. Como factores indirectos se indican aquellos que pueden interactuar con los factores directos e influir en la aparición y magnitud de los síntomas. Se consideran factores indirectos: la susceptibilidad del cultivar; la etapa de desarrollo del fruto; la forma y el vigor de las plantas, el portainjerto y tipo de poda; la orientación de las hileras en el huerto; el estado hídrico de las plantas; y la competencia entre frutos por agua y nutrientes. También se incluyen como factores indirectos a la humedad relativa, el movimiento del aire y la

---

aclimatación de los frutos (Yuri et al., 2000; Racskó et al., 2005a; Raffo Benegas y Rodríguez, 2007; Racskó y Schrader, 2012).

El cultivo de manzana se realiza en áreas que se caracterizan por la alta radiación, escasa nubosidad, elevada temperatura y evaporación, lo que resulta en un alto riesgo de daño por sol en los frutos (Smit et al., 2008). A igual condición climática, los diferentes cultivares presentan variaciones en su susceptibilidad respecto al daño por sol. Diversos estudios indicaron la alta susceptibilidad de Granny Smith y Jonagold en diversas regiones productoras del mundo. Fuji, Golden Delicious, Braeburn, Boskoop, y Red Delicious parecieran ser moderadamente sensibles, mientras que Pink Lady, Idared, y Topaz han sido reportadas como de baja sensibilidad (Racskó et al., 2005a). Investigaciones en Brasil encontraron, en condiciones similares, mayor incidencia del daño por sol en Fuji respecto a Gala (do Amarante et al., 2011). Moggia y Yuri (2003) señalan a Fuji y Braeburn como variedades susceptibles a este daño en las condiciones climáticas y de producción chilenas.

Brunner et al. (2003) indican para el estado de Washington valores de descarte cercanos al 25%, debido al daño por sol en frutos de manzana. En algunas regiones de Sudáfrica se registraron porcentajes de daño por sol del 56,9% en Granny Smith, 32,5% en Braeburn y 44,4% en Fuji (Wand et al., 2006). Aly et al. (2010) reportan valores de frutos asoleados del 16% para la variedad de manzana Anna en Egipto.

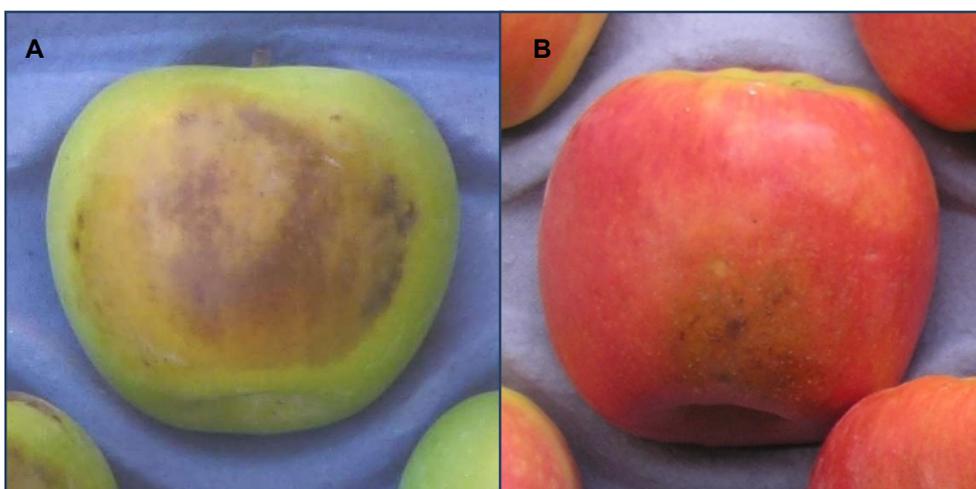
En Chile, el asoleado de manzanas es uno de los principales problemas para los productores, representando pérdidas económicas del 40%, dependiendo de la región, la variedad y la temporada (Moggia y Yuri, 2003).

Estudios realizados en la Región del Alto Valle de Río Negro indicaron que Fuji fue la variedad más susceptible, observándose que el 55,6% de los frutos muestreados presentó algún tipo de afección por sol. Le siguieron en orden de ocurrencia de daño Golden Delicious, Granny Smith y Braeburn, esta última con una incidencia de daño del 38,1%. Las variedades que menor daño presentaron fueron Starkrimson con un 14,9% y luego Red Delicious con un 24% (Colavita, 2008). Otros ensayos realizados en la región reportan valores de descarte por asoleado grave en variedad Fuji del 20% (Dussi et al., 2005). El daño por sol leve no siempre es considerado una razón de descarte de los frutos, pero este desorden disminuye el valor de los frutos en especial para exportación (Colavita, 2008).

---

### 1.2.3 Evolución del daño por sol en frutos durante la conservación

Durante el almacenaje a baja temperatura (0-2°C), los frutos expuestos a elevada radiación solar durante su crecimiento desarrollan un desorden fisiológico denominado escaldado por sol (Lurie et al., 1991; Hernández et al., 2014; Vita et al., 2016). Esta fisiopatía se visualiza como manchas marrones e irregulares en general luego de 3 meses de almacenaje en frío (Foto 2). La variedad más susceptible es Granny Smith y puede causar pérdidas económicas significativas (Contreras et al., 2008; Lurie et al., 1991; Racskó y Schrader, 2012).



**Foto 2.** Escaldado por sol en manzana Granny Smith (A) y Cripp's Pink (B).

Los síntomas aparecen exclusivamente en la superficie del fruto que estuvo expuesta a la radiación solar (Contreras et al., 2008; Lurie et al., 1991; Vita et al., 2016). Lurie et al. (1991) observaron que una proporción de frutos aparentemente sanos desarrollaban escaldado por sol luego de 4 meses de almacenamiento en frío. Estos frutos previamente expuestos al sol se aclimataron bioquímicamente a la alta radiación y temperatura en el campo, pero esos cambios también dispararon factores predisponentes para el desarrollo posterior del escaldado por sol durante la conservación.

El escaldado por sol ha sido descrito como un proceso no-enzimático y no-oxidativo ya que el pardeamiento de los tejidos no se acelera con el aumento de temperatura, al igual que las reacciones de tipo enzimática, y la expresión de los síntomas no se inhibe o reduce por el uso de antioxidantes (Lurie et al., 1991).

---

Estudios realizados en manzanas Granny Smith por Contreras et al. (2008), determinaron que frutos con mayor severidad de daño por sol a cosecha presentan mayor incidencia de escaldado por sol en el almacenaje. Luego de 3 meses de conservación en frío, los frutos levemente dañados por alta radiación presentaron aproximadamente 50% de frutos escaldados por sol mientras que, un 90% de los frutos presentó este problema cuando el golpe de sol a cosecha fue severo.

Según Hernández et al. (2014) la concentración de glicósidos de quercetina a cosecha está altamente correlacionada con el desarrollo de escaldado por sol durante el almacenamiento. La acumulación de estos compuestos se produce en la piel de los frutos de manzana con daño por sol previo a ser cosechados (Yuri et al., 2010; Felicetti y Schrader, 2009b), y en poscosecha (Felicetti y Schrader, 2010). Lurie et al. (1991) también reportaron un aumento del contenido de fenoles en frutos con diferentes niveles de asoleado a cosecha y luego de 4 meses de almacenamiento. Hernández et al. (2014) encontraron que se produjo una disminución de la concentración de glicósidos de quercetina al 50% al mismo tiempo en que aparecieron los síntomas del escaldado por sol. Este comportamiento podría deberse a que estos compuestos sufren cambios estructurales debido a su oxidación, lo que conduce a la acumulación de componentes color marrón en la piel y por lo tanto producen el síntoma típico del escaldado por sol. Se ha sugerido que la oxidación de los glicósidos de quercetina ocurre a través de peroxidasas o por la polifenoloxidasas (Felicetti y Schrader, 2010). Sin embargo, Lurie et al. (1991) no encontraron diferencias en la actividad de peroxidasas y polifenoloxidasas entre la piel sana y la que desarrolló escaldado por sol durante la conservación.

---

### **1.3 Estrés oxidativo por alta radiación solar**

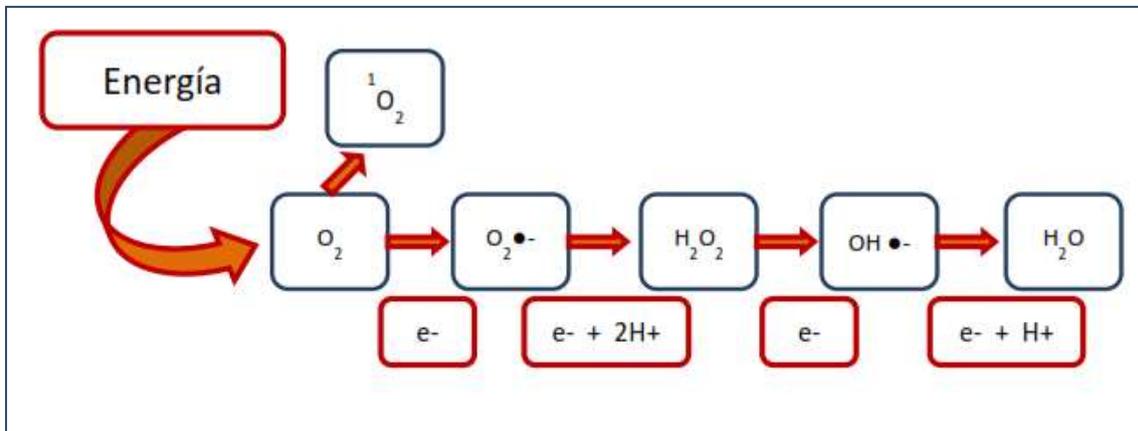
El término estrés se define como un factor externo que provoca una influencia negativa o desventajosa en la planta (Taiz y Seiger, 2010). El estrés abiótico involucra todos los factores ambientales que pueden afectar el crecimiento y la productividad de las plantas, tal como la sequía, la salinidad, el exceso de agua, el déficit de nutrientes, temperaturas extremas y alta radiación (Gong et al., 2013).

#### ***1.3.1 Formación de especies reactivas de oxígeno en frutos de manzana sometidos a elevada radiación solar***

Los frutos de manzana tienen una capacidad limitada de utilizar el flujo de fotones proveniente de la radiación solar en fotosíntesis (Chen et al., 2008). Bajo condiciones de alta radiación, la absorción de fotones por los pigmentos fotosintéticos generalmente supera la utilización por la fotosíntesis resultando en un exceso de energía de excitación de las moléculas de clorofila (Demmig- Adams et al., 1995).

Existen mecanismos que protegen a los tejidos vegetales del exceso de luz, los cuales pueden disipar el exceso de energía (Flexas y Medrano, 2002). Cuando la elevada radiación solar en combinación con altas temperaturas supera los mecanismos de disipación de energía, se induce la formación de especies reactivas de oxígeno (EROs) en los tejidos vegetales (Wünsche et al., 2004). Cada molécula de oxígeno diatómico puede aceptar cuatro electrones y cuatro protones, produciendo dos moléculas de agua. En un sistema biológico ideal, la reducción de oxígeno a agua sucede secuencialmente. Si la molécula de oxígeno sólo recibe uno, dos o tres electrones, se forman las EROs (Lamb y Dixon, 1997). Es decir que las EROs son el resultado de la reducción incompleta del oxígeno molecular y son más reactivas que éste (Figura 5). Se ha estimado que aproximadamente el 1% de  $O_2$  consumido por las plantas es transformado en EROs (Sharma et al., 2012). Dentro del grupo de las EROs se pueden encontrar radicales libres (especies químicas con uno o más electrones desapareados en sus orbitales externos), tales como el anión superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) y el radical hidroxilo ( $HO^{\bullet}$ ). Por otro lado, entre las formas no radicales se encuentran el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y el oxígeno singlete ( $^1O_2$ ), molécula altamente reactiva cuando se compara con el  $O_2$  (Gong et al., 2013). La absorción de suficiente energía invierte el spin del  $O_2$ , lo que conduce a la formación del estado singlete, en el cual los dos electrones externos presentan spin opuesto. Bajo

condiciones de alta intensidad lumínica, el  $^1\text{O}_2$  se genera vía la clorofila triplete (clorofila activada) que se forma en el complejo antena y en el centro de reacción del Fotosistema II (Sharma et al., 2012).



**Figura 5.** Ruta de la reducción univalente del oxígeno y formación de EROs.

Las EROs juegan un papel dual en el metabolismo dependiendo de su concentración en la planta (Sharma et al., 2012). A elevadas concentraciones causan daños en proteínas, lípidos, carbohidratos, ADN y pueden finalmente producir la muerte celular. Asimismo, las EROs a bajas o moderadas concentraciones actúan como mensajeros secundarios, pueden afectar la expresión de genes y la transducción de señales, lo que significa que funcionan como estímulo y señalización para activar diferentes procesos de respuesta a condiciones de estrés (Foyer y Noctor, 2009; Sharma et al., 2012).

Las EROs se encuentran en diversos compartimentos celulares como cloroplastos, mitocondrias y peroxisomas, debido a la elevada actividad metabólica que ocurre en estos compartimentos (Mittler et al., 2004). Las EROs se generan en cloroplastos vía la reacción de Mehler, en mitocondrias a través del transporte de electrones y en peroxisomas a través de la fotorrespiración (Caverzan et al., 2016).

### **1.3.2 Respuesta antioxidante y estrés fotooxidativo**

Las EROs producidas en las células son eliminadas por diversos compuestos antioxidantes (Foyer, 1994). Según Hodges et al. (2004), tanto la producción como la destrucción de EROs están claramente reguladas por diferentes procesos celulares. Sin

---

embargo, el término estrés oxidativo se ha asociado a situaciones en las cuales la generación de EROs excede la capacidad del organismo de mantener su homeostasis redox. Si bajo altas condiciones de radiación lumínica, la producción de EROs excede los mecanismos de defensa antioxidante, éstas se acumularán inevitablemente, produciendo estrés fotooxidativo. Se sugiere que, tanto el asoleado con pardeamiento como el asoleado fotooxidativo en frutos de manzana, se producen debido al estrés fotooxidativo (Chen et al., 2008; Felicetti y Schrader, 2008; Racskó y Schrader, 2012).

Convencionalmente, los compuestos antioxidantes han sido clasificados como enzimáticos y no enzimáticos, aunque en muchos casos ambos tipos de antioxidantes funcionan en forma coordinada (Foyer et al., 1994).

Los componentes enzimáticos del sistema de defensa antioxidante comprenden varias enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, la catalasa, la glutatión peroxidasa, que catalizan la degradación de las EROs, y las enzimas del ciclo del ascorbato-glutatión, tal como la ascorbato peroxidasa, la monodeshidro-ascorbato reductasa, la dehidroascorbato reductasa y la glutatión reductasa, que regeneran los antioxidantes solubles (Asada, 1999; Mittler, 2002; Mittler et., 2004). Este sistema antioxidante juega un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis celular y en la respuesta antioxidante de las plantas.

Los antioxidantes no enzimáticos se encuentran en todos los compartimentos celulares. Estos compuestos pueden actuar directamente en la detoxificación de EROs o pueden reducir algunos sustratos para la acción de enzimas antioxidantes (Mittler, 2002).

Los componentes no enzimáticos del sistema de defensa antioxidante incluyen esencialmente al ascorbato y al glutatión, así como tocoferoles, carotenoides y compuestos fenólicos (Mittler et al., 2004; Scandalios, 2005). En este sentido, se ha propuesto a las poliaminas (PAs) como compuestos antioxidantes. Se ha reportado su acción como secuestradores de radicales libres (Kubiś, 2008) y su capacidad de inhibir la peroxidación lipídica y las reacciones oxidativas catalizadas por metales (Tadolini, 1988).

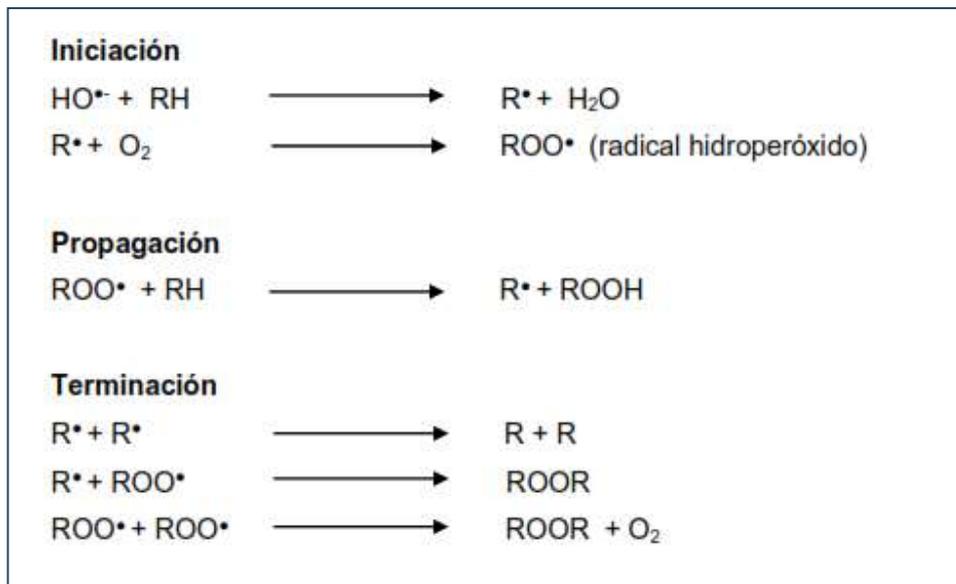
### **1.3.3 Daño oxidativo de las EROs a las biomoléculas**

Cuando el nivel de EROs excede los mecanismos de defensa, se producen daños a biomoléculas tales como lípidos, proteínas y ADN. El exceso de EROs incrementa la peroxidación de lípidos tanto en la membrana celular como en las membranas de las organelas, lo que finalmente afecta el funcionamiento celular. La peroxidación de lípidos

---

disminuye la fluidez de la membrana, aumenta la permeabilidad y causa daños secundarios a las proteínas de membrana (Halliwell, 2006). El nivel de peroxidación de lípidos se ha utilizado ampliamente como un indicador de EROs y de daño a las membranas celulares bajo condiciones de estrés. (Sharma et al., 2012). La peroxidación de lípidos es considerada como el proceso más dañino conocido que ocurre en todos los organismos vivos (Gill y Tuteja, 2010b). Los ácidos grasos poliinsaturados de los lípidos de las membranas son susceptibles a la peroxidación causada por EROs produciendo varios tipos de aldehídos, alcanos y alquenes hidroxilados incluyendo al malondialdehído (MDA) y al 4-hidroxi-2-nonenal (HNE). Estos dos productos finales se utilizan en general en los estudios de peroxidación de lípidos a través de la reacción con el ácido tiobarbitúrico (Garg y Manchanda, 2009). La peroxidación de los lípidos de membranas celulares y de las organelas, afecta no sólo el funcionamiento celular, sino que agrava el estrés oxidativo a través de la producción de radicales derivados de lípidos (Gill y Tuteja, 2010b).

El proceso global incluye tres etapas: iniciación, propagación y terminación (Figura 6). El inicio de la peroxidación lipídica en una membrana comienza con la sustracción de un átomo de hidrógeno de un doble enlace de un ácido graso poliinsaturado, principalmente por HO•. En un ambiente aeróbico, el oxígeno se puede añadir al ácido graso en el radical para dar radicales hidroperóxido. Una vez iniciado, se produce una reacción en cadena de peroxidación mediante la extracción de un átomo de hidrógeno a partir de cadenas adyacentes laterales de ácidos grasos insaturados. El hidroperóxido lipídico resultante puede fácilmente descomponerse en varias especies reactivas que incluyen MDA, alcanos y alcoholes. Un evento de iniciación individual tiene por lo tanto el potencial de generar múltiples moléculas de peróxido por una reacción en cadena. El proceso finaliza cuando los radicales peroxilo y peróxidos lipídicos se reducen totalmente reaccionando entre sí (Gill y Tuteja, 2010b).



**Figura 6.** Etapas de la peroxidación lipídica.

Las EROs producen también la oxidación de diferentes aminoácidos, generando grupos carbonilo libres que pueden inhibir o alterar sus actividades y aumentar la susceptibilidad al ataque proteolítico. La carbonilación de proteínas se produce a través de la oxidación directa de cadenas laterales de aminoácidos. Los aminoácidos que contienen azufre y los grupos tiol son más susceptibles al ataque de las EROs. El oxígeno activado extrae un átomo de hidrógeno del grupo sulfhidrilo, generando un radical que reacciona con un segundo radical formando puentes disulfuro (Moller et al., 2007).

El ADN también puede ser modificado por las EROs en diversas formas, en especial en las bases nitrogenadas. El radical  $\text{HO}^\bullet$  es el más reactivo, el  $^1\text{O}_2$  ataca en especial guanina y el  $\text{H}_2\text{O}_2$  no produce reacciones de oxidación en ADN (Moller et al., 2007).

---

## **1.4 Estrés oxidativo por bajas temperaturas de conservación**

Desde épocas del Imperio Romano las bajas temperaturas han sido utilizadas para conservar distintos cultivos y partes de plantas e incrementar su vida poscosecha y calidad (Wismer, 2003). Las bajas temperaturas retardan procesos metabólicos y permiten mantener la calidad de los productos con características similares a las alcanzadas al momento de cosecha (Shewfelt y del Rosario, 2000). Sin embargo, temperaturas extremas pueden ser estresantes para las plantas o partes de las mismas y pueden finalmente conducir a estrés oxidativo. Los órganos vegetales desprendidos de la planta pueden manejar este estrés por breves períodos, pero si el sistema de defensa es excedido por el ambiente prooxidante, se produce finalmente la aceleración de la senescencia y muerte celular (Wismer, 2003). Bartosz (1997) describe un mecanismo general para la inducción del estrés oxidativo a través de las bajas temperaturas. En su investigación sugiere que las bajas temperaturas reducen la demanda de ATP, lo que resulta en un exceso de electrones en la cadena transportadora de electrones de las mitocondrias y esto genera el incremento de EROs. En simultáneo, las bajas temperaturas reducen la actividad de las enzimas antioxidantes, lo cual disminuye la capacidad de las células de compensar el exceso de EROs producido.

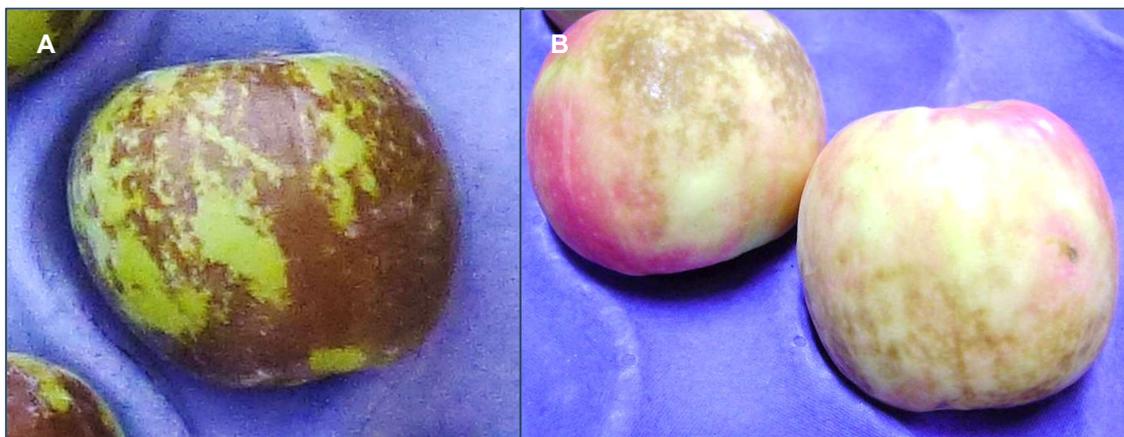
El estudio del efecto de las bajas temperaturas en poscosecha se enfocó tradicionalmente en las modificaciones de las membranas celulares. Luego se incorporaron los sistemas oxidantes y antioxidantes junto con la peroxidación de lípidos de membranas (Shewfelt y del Rosario, 2000). Du y Bramlage (1995) indican que en manzana, uno de los desórdenes asociados a estrés oxidativo durante los meses de almacenamiento a baja temperatura es el escaldado superficial.

### ***1.4.1 Escaldado superficial en frutos de manzana***

El escaldado superficial, también llamado escaldado de conservación, es un desorden fisiológico de los frutos de manzana y peras. El término escaldado o escaldadura es ampliamente utilizado para una serie de trastornos de la piel de estos frutos. El primer informe de escaldadura superficial en frutos en la literatura aparece a inicios de 1900, descrito como un problema asociado con el advenimiento del almacenamiento refrigerado (Lurie y Watkins, 2012).

---

Los síntomas de este desorden se visualizan como un ligero amarronamiento en la piel de los frutos y a medida que esta fisiopatía va progresando, el color del tejido afectado va cambiando finalmente a marrón oscuro o negro (Foto 3). Estos síntomas pueden manifestarse durante la conservación en frío o luego de la remoción de la cámara frigorífica. El oscurecimiento del contenido celular se extiende a cinco o seis capas de células de la pulpa (Ingle y D'Souza, 1989). En frutos con niveles graves de escaldado, las células de la piel y la pulpa colapsan radialmente, lo que genera áreas hundidas (DeLong y Prange, 2003). Según Pesis et al. (2012), los síntomas del escaldado superficial en Granny Smith están correlacionados con la acumulación de EROs en tejidos dañados por el almacenamiento en frío. Las bajas temperaturas provocan efectos negativos sobre la fluidez e integridad de las membranas, lo que produce pérdida de electrolitos y deterioro de la compartimentalización celular. Tsantili et al. (2007) encontraron en manzanas bicoloreadas que los sectores verdes del fruto son generalmente más propensos a desarrollar escaldado superficial respecto a los sectores de color rojo.



**Foto 3.** Escaldadura superficial en manzana Granny Smith (A) y Cripp's Pink (B). Foto Cripp's Pink, gentileza Ing. Agr. Laura Garcia. Kleppe S.A.

#### **1.4.2 Condiciones asociadas al escaldado superficial en frutos de manzana**

Se han identificado diversos factores que afectan la susceptibilidad de los frutos al desarrollo de escaldadura superficial. Existen cultivares más sensibles como Granny Smith, Law Rome, Fuji y Red Delicious; mientras que Empire, Gala, Braeburn, Pink Lady y Golden Delicious son resistentes (Tsantili et al., 2007; Ahn et al., 2007).

---

La región en donde se desarrolla el cultivo y las condiciones climáticas de la temporada de crecimiento de los frutos influyen en esta fisiopatía. Los frutos que se han desarrollado con altas temperaturas y baja humedad son más susceptibles respecto a aquellos que lo han hecho en condiciones más frías (Whitaker et al., 2009). Las bajas temperaturas durante las noches en el período previo a la cosecha disminuyen la incidencia de escaldado y se ha encontrado una relación inversa entre el número de días con temperaturas inferiores a 10°C y el desarrollo de los síntomas (Ma et al., 2001)

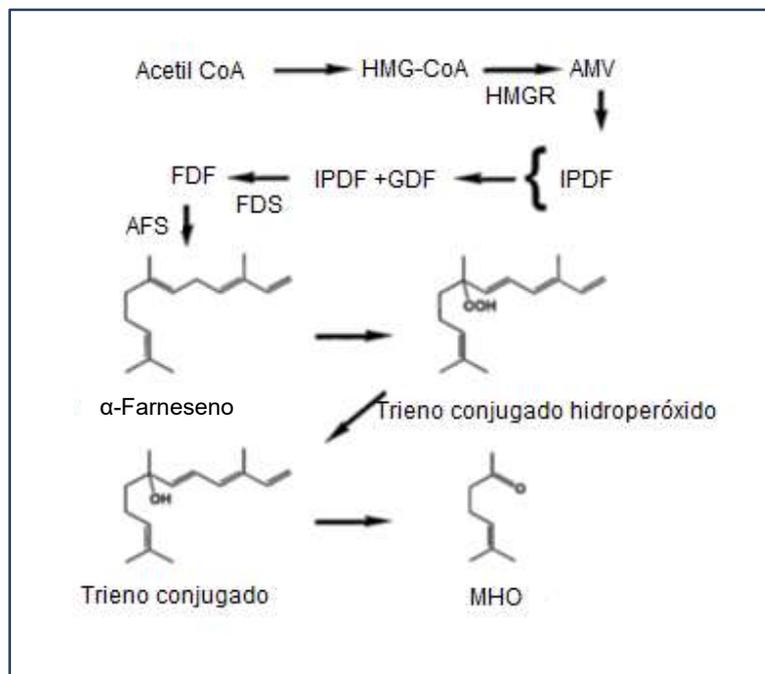
Barden y Bramlage (1994) hallaron que los frutos de manzana cosechados en forma temprana son más susceptibles respecto a aquellos de cosechas tardías, debido posiblemente a un incremento en la concentración de antioxidantes en la piel de los frutos. Los antioxidantes liposolubles se incrementan durante el almacenamiento, pero los niveles alcanzados dependen de la concentración inicial. En cosechas tardías, los niveles de antioxidantes parecieran ser adecuados para prevenir el daño oxidativo, que finalmente induce el desarrollo de escaldado superficial. Sin embargo, en pera Beurré D'Anjou evaluada en el Alto Valle de Rio Negro se observó un comportamiento opuesto al de manzana en relación al estado de madurez y el escaldado superficial. Frutos de pera cosechados en forma temprana fueron menos propensos a desarrollar síntomas que aquellos de cosechas tardías (Calvo et al., 2015).

#### ***1.4.3 Proceso bioquímico del escaldado superficial***

El mecanismo bioquímico y fisiológico que produce el escaldado superficial está aún en discusión, ya que la etiología de este fenómeno no está completamente clarificada. La observación de que el escaldado superficial puede ser inhibido por determinados antioxidantes y concentraciones bajas de oxígeno, indica que el desarrollo de este desorden está asociado con un proceso oxidativo. La hipótesis más estudiada y aceptada actualmente asume que este desorden se asocia a la acumulación de compuestos volátiles durante el almacenamiento. Investigaciones realizadas desde los años 50 permitieron identificar al sesquiterpeno acíclico  $\alpha$ -farneseno (3,7,11-trimetil,1,3,6,10-dodecatetraeno) (AF), un compuesto volátil que se incrementa durante el almacenamiento de frutos de manzana y puede ser removido a través de la ventilación o la absorción en papeles impregnados en aceite (Lurie y Watkins, 2012). Este compuesto volátil se encuentra en la piel, en especial en la capa de cera externa, debido a sus

características lipofílicas (Tsantili et al., 2007). Los AF comienzan a acumularse rápidamente con el avance de la madurez y en especial al inicio del almacenamiento en frío, y generalmente alcanzan un máximo a las 8-12 semanas de conservación para luego decaer (Whitaker, 2007). A pesar de que los AF se acumulan en la capa de cera, los síntomas se desarrollan en las células de la epidermis y de la hipodermis conservadas a bajas temperaturas (Lurie, 1991). Debido a esto, este desorden es caracterizado como un típico daño por frío (Watkins et al., 1995).

La síntesis de los AF ocurre principalmente a través de la vía del ácido mevalónico (AMV) en el citosol, la cual se inicia a través de la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa (HMGR) que reduce al 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) (Figura 7). El isopentenil difosfato (IPDF) se condensa con geranyl difosfato (GDF) a través de la acción de la farnesil difosfato sintasa (FDS) para formar farnesil difosfato (FDF) que luego es transformado a AF a través de la  $\alpha$ -farneseno sintasa (AFS). La oxidación de los AF produce trienos conjugados (TC) y finalmente una cetona, 6-metil-5 hepten-2 (MHO), que es volátil y tóxica para la fruta. El 95% de los TC que se acumulan en la piel de las manzanas son los isómeros 9E y 9Z de 2, 6,10-trimetildodeca-2,7,9,11-tetraen-3-ol (Whitaker, 2004).



**Figura 7.** Biosíntesis de  $\alpha$ -Farnesenos y su oxidación en manzanas.  
Adaptado de Lurie y Watkins (2012).

---

Estudios de correlación han demostrado una estrecha relación entre la producción de AF y de etileno (Tsantili et al., 2007), ya que esta hormona regula la expresión de la AFS (Busatto et al., 2014). Varias investigaciones han indicado que inhibidores del etileno pueden desempeñar un papel significativo en el control de la escaldadura superficial a través de la disminución de la acumulación de AF en manzanas Granny Smith (Ekinci et al., 2016).

Sin embargo, los niveles de AF no estarían involucrados directamente en el desarrollo de escaldado superficial, sino que la acumulación de TC y MHO en la piel serían en definitiva la causa (Ahn et al., 2007). Los AF disminuyen durante el almacenamiento prolongado en frío debido a una menor actividad de la AFS, así como una mayor oxidación a TC. La aparición de los síntomas de escaldado por lo general coincide con este período (Rupasinghe et al., 2000).

La resistencia que presentan algunos cultivares a esta fisiopatía tampoco pareciera estar correlacionada con la concentración de AF, ya que se han encontrado altos niveles de este terpeno en variedades resistentes como Empire (Ahn et al., 2007), o en sectores de los frutos que no desarrollaban escaldado (Rupasinghe et al., 2000).

La variabilidad encontrada entre el contenido de AF y TC y la incidencia de este desorden en variedades resistentes y susceptibles indicaría que no se debe considerar exclusivamente a la teoría de la oxidación de los AF como único modelo posible (DeLong y Prange, 2003).

La relación entre los niveles de oxígeno y la escaldadura superficial es compleja y se encuentra aún en debate. Los bajos niveles de oxígeno podrían intervenir limitando la oxidación de los AF y/o reduciendo la producción de EROs (Wright et al., 2015). El almacenamiento de manzanas en una atmósfera pobre en oxígeno produjo una disminución del 58% y del 66% de AF y de TC respectivamente, comparado con frutos conservados en una atmósfera convencional, lo que indica que bajos niveles de oxígeno afectan tanto la producción de AF como su oxidación (Rupasinghe et al., 2000). Sabban-Amin et al. (2011) en estudios realizados en Granny Smith, observaron que los frutos conservados a bajos niveles de oxígeno produjeron menor cantidad de EROs y una reducción de la escaldadura superficial respecto a los frutos almacenados en atmósfera convencional. Algunos investigadores han propuesto que la escaldadura surge como resultado de una condición de estrés oxidativo en general, y que la autooxidación de AF es una manifestación secundaria debida a una excesiva producción de radicales libres (Rupasinghe et al., 2000).

---

Bussato et al. (2014) proponen que los AF se acumulan en la piel de los frutos de manzana durante el almacenamiento poscosecha. Luego, en respuesta al estrés oxidativo causado por las bajas temperaturas los AF se oxidan a TC, los cuales actúan como una señal para que se disparen mecanismos de defensa antioxidante. Dentro de estos mecanismos se encuentra la síntesis de polifenoles, en especial ácido clorogénico. Este compuesto es oxidado por la polifenol oxidasa generando la coloración marrón característica de este desorden.

Según Whitaker et al. (2000), la actividad del sistema antioxidante es más significativa para el desarrollo del escaldado superficial que la concentración de AF. Investigaciones realizadas por Ahn et al. (2007) indicaron que la actividad enzimática antioxidante tendría un rol significativo en la susceptibilidad o resistencia de los diferentes cultivares al escaldado superficial. Los antioxidantes tales como el  $\alpha$ -tocoferol, el ácido ascórbico y los flavonoles se asocian con una mayor resistencia al desarrollo de escaldado superficial. Se ha encontrado mayor actividad de las enzimas peroxidasa y catalasa en variedades de manzana resistentes a la escaldadura superficial (Rupasinghe et al., 2000).

En estudios realizados en frutos de manzana expuestos a radiación solar se encontró que el sector no expuesto presentaba mayor desarrollo de escaldadura superficial que el sector expuesto (Ma y Cheng, 2003; Rodikov, 2008), a pesar de presentar contenidos similares de AF (Rodikov, 2008). Es posible asumir que esto es consecuencia de un mayor contenido de antioxidantes en la piel producidos por la exposición a la radiación solar, aunque es necesario confirmar este mecanismo (Rodikov, 2008; Wright et al., 2015).

#### **1.4.4 Importancia económica y métodos de control**

La escaldadura superficial no afecta de manera significativa la calidad interna de los frutos, pero su valor comercial disminuye debido a que el aspecto externo del fruto resulta inadecuado para su venta en fresco (Guerra et al., 2012). Se considera que este desorden de poscosecha produce las mayores pérdidas económicas tanto en peras como en manzanas (Calvo y Candan, 2012; Guerra et al., 2012; Busatto et al., 2014; Mditshwa et al., 2016). En general, los precios de la fruta escaldada son 40-50% menores que los de la fruta sana (Calvo y Candan, 2012).

---

Se han desarrollado diferentes métodos para el manejo de la escaldadura superficial durante la poscosecha de manzanas. Las aplicaciones de soluciones con difenilamina (DPA) permitieron durante muchos años controlar este proceso oxidativo en un amplio rango de condiciones (Whitaker, 2004). Este antioxidante sintético inhibe la oxidación de los AF, permitiendo una reducción del 90% de la concentración de TC en frutos tratados con DPA (Rupasinghe et al., 2000). Actualmente, debido a la mayor preocupación sobre la toxicidad de la DPA, la restricción de algunos mercados y su prohibición en Europa (Guerra et al., 2012), se están probando otros métodos más seguros y sustentables como el almacenamiento en atmósferas controladas, ventilación forzada y el uso de 1-meticiclopropeno (1-MCP). Sin embargo, su eficacia está influenciada por el estado de madurez y la uniformidad del lote de fruta considerado (Candan y Calvo, 2010). En investigaciones realizadas en el Alto Valle, se observó que en manzanas variedad Cripp's Pink tratadas con 1-MCP o conservadas en atmósfera controlada y atmósfera controlada dinámica se inhibía completamente el desarrollo de escaldado superficial durante la vida en estante luego de 7 meses de conservación a 0° C (Calvo y Candan, 2012). Sin embargo, los diferentes métodos físicos y químicos probados para el control de esta fisiopatía no han demostrado ser aún una alternativa que permita una solución definitiva y totalmente confiable (Guerra et al., 2012).

---

## 1.5 Poliaminas

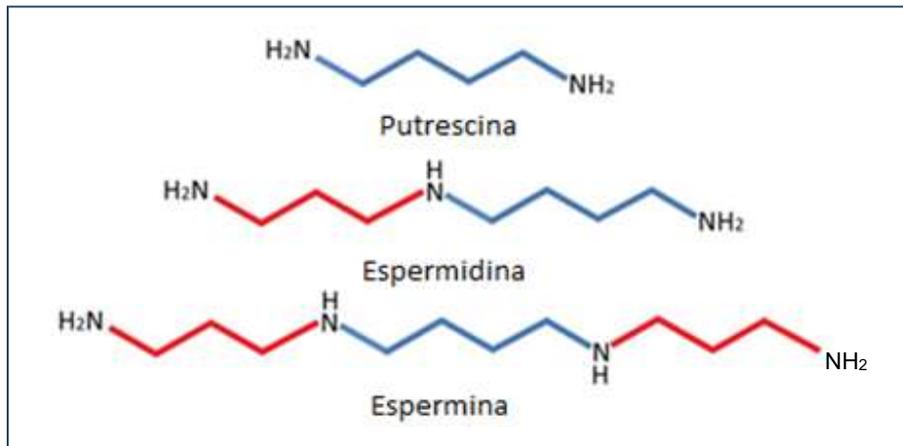
Las PAs son poliaminas de bajo peso molecular que se encuentran en todos los seres vivos (Cohen, 1998). Son esenciales para el crecimiento y desarrollo tanto de procariotas como eucariotas (Tiburcio et al., 1990).

El conocimiento de las PAs se remonta a más de 300 años atrás cuando Anton van Leeuwenhoek, estudiando el semen humano en su microscopio, notó la deposición de ciertos cristales que correspondían a estos compuestos. Luego de 200 años se identificó al componente básico de esos cristales, al cual se denominó espermina, pero no fue hasta 1920 que su composición química y estructura fue determinada en forma más precisa. Las PAs fueron de interés para los químicos por el resto del siglo, cuando un libro publicado por Cohen en 1971 basado en una serie de expositores invitados en el Colegio de Francia, direccionaron la atención a la posible importancia biológica de estos compuestos y promovieron la investigación en diversas áreas, incluyendo la fisiología vegetal (Galston y Sawhney, 1990).

### 1.5.1 Poliaminas en plantas

En las células vegetales las PAs más comunes son 1,4-diaminobutano o putrescina (Put), que sirve de sustrato para la triamina 1,8-diamino-4-oxaocano o espermidina (Spd) y la tetramina 1,12-diamino-4,9-diazadodecano o espermina (Spm) (Figura 8) (Cohen, 1998).

Existen en plantas y bacterias otras PAs menos comunes, como la cadaverina, el diaminopropano, la nor-espermidina, la nor-espermina y la termoespermina, siendo esta última un isómero de la espermina (Kuznetsov et al., 2007). La distribución de estos compuestos en los diferentes tejidos depende del estado de desarrollo, y en general es más abundante la Put respecto a la Spd y a la Spm (Naka et al., 2010). En plantas, las PAs se encuentran presentes desde un nivel micromolar hasta milimolar (Galston y Sawhney, 1990) y aunque su concentración es mayor respecto a las fitohormonas, se las considera también reguladores de crecimiento, ya que juegan un papel fundamental en una amplia variedad de procesos (Menéndez et al., 2013). Otros investigadores, sin embargo, no las clasifican como fitohormonas debido precisamente a su alta concentración en los tejidos vegetales (Fujita y Shinozaki, 2015).



**Figura 8.** Estructura química de la putrescina, espermidina y espermina. Los grupos aminopropilos (en rojo) se unen a la cadena lineal de cuatro carbonos de la putrescina (en azul) para producir espermidina y espermina. Adaptado de Britián et al. (2012)

Las PAs se encuentran presentes en todos los compartimentos celulares, en especial en tejidos que se encuentran en activo crecimiento (Menéndez et al., 2013). Las PAs han sido halladas en citoplasma, núcleo, membrana plasmática, mitocondrias y cloroplastos, aunque los principales sitios de reserva son la pared celular y las vacuolas (Slocum, 1991; Menéndez et al., 2013; Calzadilla et al., 2014). A pH fisiológico, las PAs se encuentran cargadas positivamente y esta propiedad les permite interactuar con macromoléculas que poseen carga negativa, como ADN, ARN, proteínas y fosfolípidos. De esta manera, las PAs están implicadas en la regulación de las propiedades físicas y químicas de la membrana, la estructura de los ácidos nucleicos y la modulación de actividades enzimáticas, además de ser reconocidas como esenciales en los procesos de proliferación y diferenciación celular (Galston y Sawhney, 1990; Handa y Mattoo, 2010). Las PAs también se han relacionado con diferentes fenómenos en las plantas, tales como la germinación, la iniciación floral y el desarrollo, la organogénesis, la embriogénesis, la rizogénesis, la senescencia de hojas y el desarrollo y maduración de frutos (Slocum, 1991; Kakkar et al., 2000; Kakkar y Sawhney, 2002).

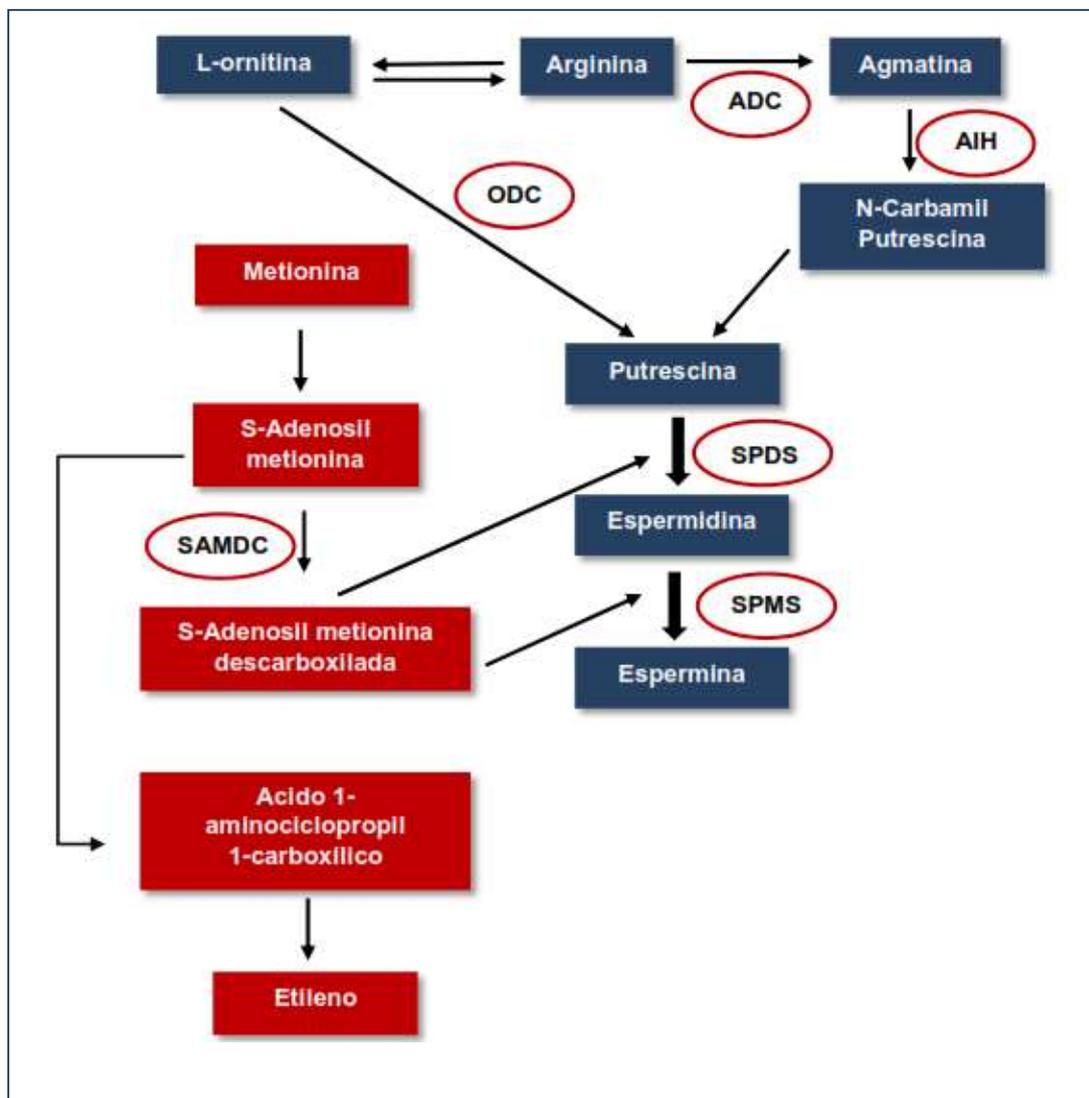
---

### **1.5.2 Regulación interna de poliaminas: biosíntesis, degradación, conjugación y transporte**

La biosíntesis de las PAs se inicia con la descarboxilación de la ornitina para formar Put. Esta reacción es catalizada por la ornitina descarboxilasa (ODC) (Figura 9). En plantas y algunos procariontes existe una ruta metabólica alternativa que se inicia con la descarboxilación de la arginina por una arginina descarboxilasa (ADC) para formar agmatina, que es hidrolizada por una agmatina-imino hidrolasa (AIH), dando lugar a N-carbamilputrescina que finalmente, es transformada en Put. A su vez, la ornitina y la arginina son convertibles entre sí; la ornitina se convierte en arginina a través de la vía de la citrulina mientras que, la arginina se convierte en ornitina por la acción de la actividad arginasa (Tiburcio et al., 1997). La existencia de estas dos rutas alternativas para la síntesis de Put puede explicarse por la diferente localización de las dos enzimas implicadas en la célula vegetal. La ODC se encuentra en el citoplasma, el núcleo y en la membrana de plastidios, mientras que la ADC se encuentra fundamentalmente en los cloroplastos y el núcleo (Slocum, 1991; Tassoni et al., 2003; Bortolotti et al., 2004).

A partir de la Put, se producen la Spd y Spm mediante la adición de grupos aminopropilo por la acción de las enzimas espermidina sintasa (SPDS) y espermina sintasa (SPMS). Los grupos aminopropilo derivan de la metionina, la cual es convertida en primera instancia en S-adenosilmetionina (SAM) y luego descarboxilada en una reacción catalizada por la S-adenosilmetionina descarboxilasa (SAMDC). La SAM es un precursor común para las rutas de biosíntesis tanto de las PAs como del etileno y la SAMDC regula ambos procesos (Tiburcio et al., 1997; Barrachina et al., 2000). Se ha determinado actividad de la SPDS y la SAMDC exclusivamente en el citoplasma (Slocum, 1991) y no existe información sobre la SPMS (Menéndez et al., 2013).

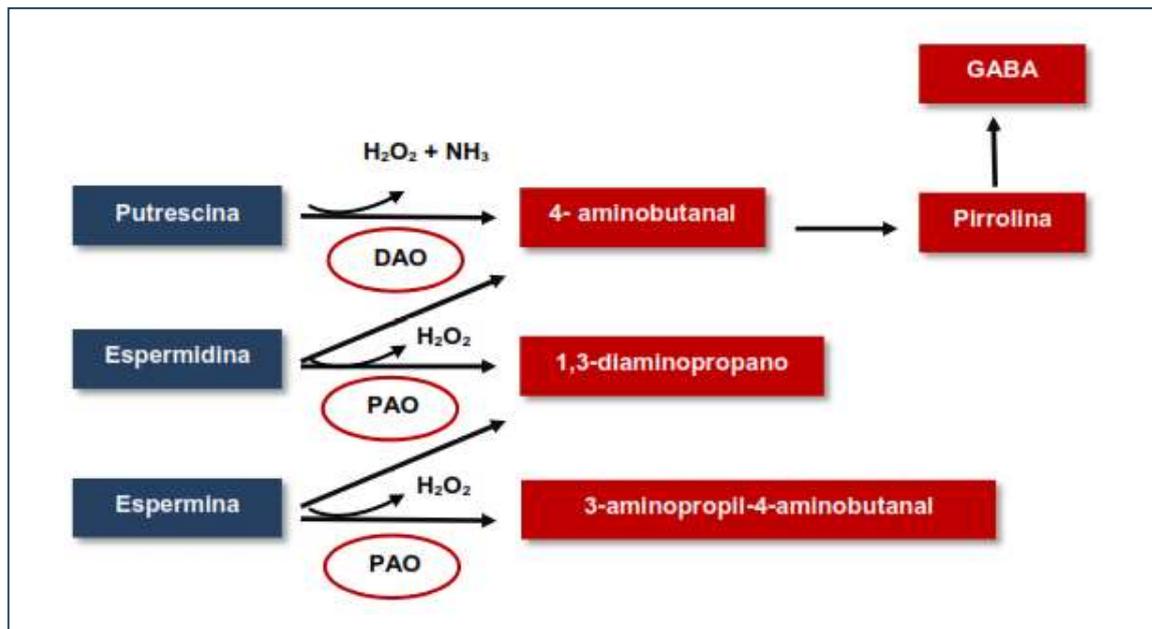
Existen cruces de las vías metabólicas entre la Put y algunos metabolitos secundarios. La enzima putrescina N-metiltransferasa cataliza la metilación de Put usando SAM como donante de metilo. El producto de esta reacción es putrescina N-metilo, el cual es precursor para la síntesis de alcaloides en solanáceas y convolvuláceas, entre ellos la nicotina, el tropano y el nortropano (Blastoff et al., 2009).



**Figura 9.** Biosíntesis de Putrescina, Espermidina y Espermina y su relación con la biosíntesis del etileno

Como sucede con todos los reguladores de crecimiento vegetal, la cantidad intracelular de PAs libres no sólo depende de su síntesis, sino que también se ve influenciada por otros procesos tales como la degradación, la conjugación y el transporte (Barrachina et al., 2000). El nivel de PAs libres es estrictamente regulado y, en general, suele variar en respuesta a condiciones de estrés ambiental o durante la transición entre diferentes etapas de desarrollo (Britián et al., 2012).

Las PAs son desaminadas a través de la acción de amino oxidasas. La cobre diamino oxidasa (DAO) oxida a la diamina putrescina a 4-aminobutanal concomitantemente con la liberación de  $\text{NH}_3$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Figura 10). La DAO participa en eventos fisiológicos importantes, que incluyen la biosíntesis de la lignina y de la pared celular, a través de productos de reacción, principalmente  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Laurenzi et al., 2001; Cona et al., 2003).



**Figura 10.** Catabolismo de Putrescina, Espermidina y Espermina

La poliamina oxidasa (PAO) es otra clase de amino oxidasa que se asocia a las paredes celulares y puede desaminar la Spd y Spm, utilizando flavin-adeninucleótido (FAD) como cofactor y  $\text{O}_2$  como donador de electrones. El catabolismo de la Spd y Spm produce 4-aminobutanal o 3-aminopropil-4-aminobutanal, respectivamente, junto a 1,3-diaminopropano y  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Moschou et al., 2008). El 4-aminobutanal producido en el catabolismo de la Put y Spd puede ser convertido a ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) a través de la 1-pirrolina. Los aumentos de los niveles del GABA en plantas se corresponden con una respuesta a diferentes tipos de estrés (Bouchereau et al., 1999). Se ha sugerido que el GABA contribuye en la protección frente al estrés a través de la regulación de pH celular, en calidad de osmorregulador o como molécula de señalización

---

(Roberts, 2007). Otro grupo de PAO está involucrado en la conversión de Spm a Spd y ésta a Put con la liberación de 3-aminopropanal y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Moschou et al., 2008).

Sebela et al. (2001), indicaron que las enzimas DAO y PAO se localizan predominantemente en el apoplasto; aunque otros autores sugieren también una localización en el citoplasma, en los peroxisomas y las vacuolas (Cona et al., 2003).

Las PAs se pueden encontrar como formas solubles o insolubles. Las formas solubles pueden estar libres o conjugadas en forma covalente a compuestos de bajo peso molecular como algunos fenoles, mientras que las formas insolubles pueden estar unidas en forma covalente a lípidos, proteínas o pared celular (Bagni y Tassoni, 2001). La conjugación de PAs a ácidos fenólicos como los ácidos hidroxicinámicos (cumárico, cinámico, ferúlico) da origen a diversos compuestos llamados genéricamente amidas del ácido hidroxicinámico, que se correlacionan positivamente con el proceso de desarrollo. Esta forma de conjugación parece importante como forma de control de la concentración intracelular de PAs, como una fuente para el transporte, como un sustrato para aminooxidasas y peroxidasas, y también para su interacción con componentes de la pared celular, especialmente hemicelulosa y lignina (Martin-Tanguy, 2001; Bagni y Tassoni, 2001).

Diferentes especies de plantas contienen proporciones variables de PAs libres y conjugadas (Bagni y Tassoni, 2001). Células de tabaco y cebada pueden contener hasta un 90% de PAs conjugadas, mientras que en cultivos de células de zanahoria, por ejemplo, representan menos del 10% (Torrighiani et al., 1987).

En las células vegetales, las PAs se sintetizan en plastidios y en el citosol y pueden ser exportadas hacia el apoplasto, donde son metabolizadas por las PAO produciendo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Esta compartimentalización indica que existen transportadores que permiten la movilidad de las PAs entre los diferentes sitios celulares, y que este transporte tendría importancia en el rol fisiológico de las PAs (Calzadilla et al., 2014; Fujita y Shinozaki, 2015).

A lo largo de los años se ha estudiado el transporte de las PAs a nivel celular y de órganos en diversas especies, pero aún no se conocen completamente los mecanismos moleculares involucrados. Estudios realizados por Pistocchi et al. (1988) sobre la captación y transporte de Put y Spd en protoplastos y vacuolas aisladas de zanahoria demostraron que el ingreso de las PAs a nivel celular es muy rápido, alcanzando la saturación después de 1-2 min. Diversos trabajos han identificado proteínas transportadoras de PAs. Un estudio sobre la respuesta a estrés oxidativo de *Arabidopsis*

---

causado por el herbicida Paraquat permitió identificar a las proteínas transportadoras de la familia LAT, llamadas así debido a la similitud de secuencia con el aminoácido transportador tipo "L" en mamíferos. También se han identificado otro grupos de proteínas denominadas PUT ("Polyamine uptake transporter"), tanto en arroz como en *Arabidopsis*. Las diferentes ubicaciones de los transportadores en membrana plasmática, aparato de Golgi y retículo endoplasmático, sugieren que estas proteínas participan en la translocación de PAs a nivel intracelular y extracelular a través de la membrana plasmática. Aún no se han identificado transportadores en otros compartimentos celulares como las mitocondrias o las vacuolas (Fujita y Shinozaki, 2015).

Los estudios del transporte a larga distancia de PAs en plantas se realizaron por primera vez en manzano. Put aplicada en forma exógena fue absorbida por hojas y flores de manzano y transformada, en parte, a Spd y Spm. Esta investigación permitió además determinar que estas tres PAs pueden moverse a través del pedúnculo en forma no polar y afectar el establecimiento y desarrollo de los frutos (Bagni et al., 1984).

Estudios posteriores en diversas especies informaron que PAs aplicadas exógenamente incluyendo a la Spm y la Spd provocan una amplia variedad de respuestas biológicas, tales como el desarrollo, la senescencia y las respuestas frente al estrés. Estos resultados apoyan la existencia de un sistema de transporte de las PAs en las plantas (Fujita y Shinozaki, 2015). A pesar de ser cationes escasamente móviles debido a su fuerte interacción con algunos componentes de la pared celular, la translocación a distancia se realiza a través del xilema y del floema (Bagni y Pistocchi, 1991). Feray et al. (1992) demostraron a través de un experimento que Put suministrada en hoja de papa fue transportada a través del floema. Diversos investigadores llegaron a la conclusión de que la Put es fácilmente transportada dentro del floema mientras que el transporte de Spd y Spm es bastante limitado. Esto podría deberse a que la capacidad para el transporte de PAs en el floema disminuye con el aumento del número de grupos amino en la molécula. Sin embargo, se necesita investigación adicional para comprender el mecanismo real implicado en el transporte de larga distancia de las PAs (Fariduddin et al., 2013).

### **1.5.3 Poliaminas en el desarrollo y crecimiento de las plantas**

La disponibilidad de inhibidores específicos de la biosíntesis de las PAs ha contribuido en la investigación de los mecanismos e interacciones de las mismas y del entendimiento de su papel fisiológico en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Las

---

PAs están involucradas en numerosos procesos del desarrollo vegetal, incluyendo la división celular, embriogénesis, desarrollo de órganos reproductivos, crecimiento radical, tuberización, iniciación floral y senescencia de hojas (Kaur-Sawhney et al., 2003).

Estudios moleculares sobre PAs pusieron de manifiesto sus implicaciones en diversos procesos celulares, tales como la condensación de cromatina, el mantenimiento de la estabilidad y función del ADN, el procesamiento del ARN, la traducción y la activación de proteínas (Childs et al., 2003).

Las PAs, tanto en su forma libre como conjugadas, han sido ampliamente estudiadas respecto a la iniciación y el desarrollo floral. La concentración endógena de PAs en las plantas cambia sustancialmente durante la transición de la fase vegetativa a reproductiva (Galston y Sawhney, 1990; Kakkar y Sawhney, 2002).

Durante el desarrollo de los frutos, las PAs también juegan un rol significativo. Cambios en los niveles de PAs libres durante el crecimiento y maduración de frutos han sido ampliamente estudiados en una gran variedad de frutos climatéricos y no climatéricos. Se han observado altos niveles de PAs en las primeras etapas del crecimiento de frutos de manzana, palta y mandarina (Wimalasekera et al., 2011). Esta alta concentración de PAs durante las fases tempranas del crecimiento del fruto corresponde a la etapa de división celular que luego decrece durante el crecimiento y la maduración (Valero et al., 2002). En frutos de manzana y cereza, Kondo et al. (2000) encontraron altos niveles de PAs durante la división celular, que luego se fueron reduciendo durante la fase de expansión celular.

Asimismo se ha encontrado una correlación entre altos niveles de PAs y el retraso en la producción de etileno y la maduración de los frutos (Galston y Sawhney, 1990; Kakkar y Sawhney, 2002). Las PAs juegan un papel en el retraso de la senescencia posiblemente a través de la retención de la clorofila, la inhibición de la síntesis de etileno, la estabilización de las membranas, la prevención de la peroxidación lipídica y el secuestro de radicales libres (Wimalasekera et al., 2011).

Modificaciones de los niveles endógenos de PAs a través de inhibidores o de la manipulación genética tienen efectos significativos sobre el desarrollo radical lo que implica que estos compuestos también están involucrados en el crecimiento de la raíz primaria, y de las raíces laterales y adventicias según lo estudiado por Couée et al. (2004).

---

#### **1.5.4 Estrés abiótico y metabolismo de poliaminas**

Numerosos estudios han demostrado que bajo diferentes condiciones de estrés abiótico tales como sequía, salinidad, altas y bajas temperaturas, radiación UV, metales pesados y ozono entre otros, se produce la acumulación de PAs (Groppa y Benavides, 2008).

Durante el estrés hídrico, las PAs participan de los mecanismos de protección y tolerancia (Menéndez et al., 2013). En plantas de trigo sometidas a condiciones de sequía se observó un aumento significativo de la concentración de Spd y Spm libre en las hojas, en especial en los cultivares tolerantes (Liu et al., 2004). Yang et al. (2007) encontraron respuestas similares en diferentes cultivares de arroz cuando fueron sometidas a condiciones de estrés hídrico. Se observó un aumento de las actividades de ADC, SAMDC y SPDS en las hojas, en consonancia con el aumento de Put, Spd y Spm. Lei (2008) utilizó *Populus przewalskii* como especie leñosa modelo para investigar la aclimatación y adaptación al estrés por sequía, en particular, los daños por EROs y los sistemas de captura de radicales libres. El estrés hídrico produjo una reducción de la acumulación de biomasa del árbol, e incrementó los niveles de Put y Spd, mientras que se observaron pequeñas variaciones en el nivel de Spm.

Existen múltiples mecanismos que contribuyen a la respuesta adaptativa de las plantas al estrés hídrico, como el control estomático, la reducción de la transpiración, el ajuste osmótico, el mantenimiento de la turgencia y de la homeostasis iónica, entre otras. Todos estos mecanismos dependen de la actividad de transporte de las membranas (Pottosin y Shabala, 2014). Durante el estrés por sequía, las PAs juegan un papel significativo de protección de las membranas celulares (Menéndez et al., 2013; Calzadilla et al., 2014). Estas moléculas pueden unirse a la carga negativa de los grupos de fosfolípidos, lo que contribuye a la estabilización de la conformación de la membrana o pueden actuar como osmolitos. Las PAs también pueden regular las alteraciones de pH debido al estrés osmótico, revirtiendo la inactividad de la H<sup>+</sup>ATPasa (Menéndez et al., 2013). Otra acción de las PAs a nivel de la membrana plasmática es el bloqueo de los canales de cationes, debido a su fuerte carga positiva. Las PAs bloquean de forma selectiva la salida de Na<sup>+</sup> respecto a los canales del K<sup>+</sup> en el tonoplasto y mantienen el Na<sup>+</sup> en el interior de la vacuola, cambiando así la relación K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> en el citoplasma bajo condiciones de estrés (Pottosin et al., 2014). La reducción de la acumulación del Na<sup>+</sup> en el

---

citosol a través del control del transporte transmembrana es otra forma de mejorar el funcionamiento de la planta bajo condiciones de estrés salino (Pottosin y Shabala, 2014).

La acumulación de PAs es una respuesta inmediata observada en diferentes cultivos luego de ser expuestos a condiciones de estrés salino (Ghosh et al., 2011). Diversos autores han reportado que el aumento de Put es una respuesta generalizada al estrés osmótico y salino y que la ADC es la enzima mayormente involucrada en esta respuesta (Bouchereau et al., 1999; Lefevre et al., 2001). Maiale et al. (2004), en investigaciones realizadas en arroz bajo condiciones de alta salinidad, determinaron un aumento de la ADC y la subsecuente acumulación de Put en forma rápida luego del shock osmótico, seguido de una disminución luego de semanas de exposición. Posiblemente, Put sea utilizada para la biosíntesis de PAs superiores durante la exposición a este tipo de estrés en periodos prolongados. La velocidad de conversión de Put en Spd y finalmente en Spm bajo condiciones de estrés salino, podría utilizarse como un indicador del nivel de tolerancia de la planta (Groppa y Benavides, 2008; Calzadilla et al., 2014). El incremento de la relación  $(\text{Spd}+\text{Spm})/\text{Put}$  es un factor de tolerancia crítico frente a las condiciones de estrés. Ciertas condiciones de estrés sobre los tejidos vegetales modifican la relación entre las PAs individuales tal lo indicado por Zapata et al. (2004) a través de la observación del aumento en la relación  $(\text{Spd}+\text{Spm})/\text{Put}$  en diversas especies sometidas a estrés salino.

Cuando las plantas son sometidas a condiciones estresantes causadas por alta temperatura, se produce un aumento de los niveles de PAs tanto libres como conjugadas y una mayor actividad de la ADC y PAO en especial en plantas tolerantes (Bouchereau et al., 1999). En investigaciones en tomate bajo estrés por alta temperatura, se ha observado un aumento del contenido de MDA debido a una mayor peroxidación de lípidos. La sobreexpresión de SAMDC en tomate transgénico aumentó los niveles de Spd y Spm y a su vez disminuyó el contenido de MDA (Cheng et al., 2009).

Las PAs se encuentran también involucradas en la respuesta al estrés por bajas temperaturas. El daño por frío se produce en las plantas cuando las temperaturas son demasiado bajas, aunque estén por encima de cero y no se produzca congelamiento, ya que provocan la pérdida de las propiedades de las membranas celulares (Taiz y Zeiger, 2010).

Según Urano et al. (2003), los niveles de Put libre se incrementan bajo condiciones de estrés por frío y esto se correlaciona con la inducción de genes que promueven a la ADC. De igual modo, se ha determinado que los niveles de Spd y Spm permanecen

---

constantes o en algunos casos disminuyen bajo condiciones de estrés por bajas temperaturas (Alcázar et al., 2010). Existen diversas investigaciones que demuestran un aumento del contenido de PAs, en especial Put, bajo situaciones de estrés por bajas temperaturas como en el caso de maíz (Németh et al., 2002), tomate (Kim et al., 2002), zapallo (Shen et al., 2000) y arroz (Lee et al., 1997). En plantas de garbanzo sometidas a bajas temperaturas, se produjo una acumulación de Put, Spd y Spm durante el inicio de floración. Esta condición de estrés ocasionó un aumento en la pérdida de electrolitos y una disminución de la respiración celular. La aplicación de 10 mM de Put durante el estado de plena floración, revirtió estos efectos y produjo una mayor retención floral (Nayyar, 2005). La aplicación exógena de PAs en este mismo cultivo, redujo el nivel de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y el contenido de MDA y provocó un aumento de los niveles de antioxidantes (Nayyar y Chander, 2004). Renaut et al. (2005) reportaron en plántulas de álamo la acumulación de Put al inicio del estrés por frío, incrementándose luego de 4 o 7 días el contenido de Spd y Spm.

Existe relativamente escasa información respecto al rol de las PAs en relación al estrés por radiación ultravioleta (UV) en plantas (Fariduddin et al., 2013). González-Aguilar et al. (2004) estudiaron el efecto de la radiación UV-C y el nivel endógeno de PAs en tejidos de durazno. Se observó un incremento de Put en tratamientos con una exposición de 3 a 5 minutos, mientras que no hubo diferencias en tratamientos con exposiciones más prolongadas. Los niveles de Spd en general se incrementaron en forma inmediata al tratamiento con UV-C en especial luego de tratamientos de más de 10 min. Estos niveles se mantuvieron relativamente constantes luego de 21 días a 5°C + 7 días a temperatura ambiente. También se observó un aumento de Spm, pero este aumento no se mantuvo luego de la conservación en frío. Callos de tabaco tratados con UV-C presentaron mayor contenido de Put en las capas superiores luego de 6 horas de irradiación, pero este nivel disminuyó luego de 24-48 h. El contenido de Spd y Spm no fue afectado por el tratamiento con UV-C (Zacchini y de Agazio, 2004). Katerova y Todorova (2009) determinaron la concentración de las PAs en hojas de plantas de poroto tratadas con UV-C y observaron que, en forma general, los niveles de Put y Spm libres aumentaron su concentración en las plantas tratadas, mientras que se redujo la concentración de Spd libre. Esta acumulación inicial de Put y Spm debido al tratamiento puede ser considerada una reacción de defensa de la planta. También detectaron una disminución de la fracción de PAs conjugadas.

---

Aunque el metabolismo de las PAs frente a condiciones de estrés abiótico en plantas no está totalmente claro, se ha producido en los últimos años una gran cantidad de información que permite distinguir algunos de los mecanismos por los cuales las PAs pueden atenuar diferentes situaciones de estrés (Calzadilla et al., 2014). La naturaleza polifuncional de las PAs es una de las características sobresalientes de estas moléculas, ya que permite su interacción con otros componentes celulares. En los cloroplastos, las PAs protegen a la membrana tilacoidal contra los efectos nocivos de condiciones estresantes y permiten mantener la función fotosintética (Calzadilla et al., 2014). Existen diversas líneas que relacionan a las PAs y la fotosíntesis. La conjugación de las PAs a los complejos fotosintéticos y a proteínas es catalizada por la transglutaminasa y conduce a una mayor actividad fotosintética bajo condiciones de estrés (Hamdani et al., 2011; Ioannidis et al., 2012). Shu et al. (2012) encontraron que, en plantas de zapallo bajo estrés salino, el agregado de Put incrementó el contenido de PAs totales en la membrana del tilacoide y la actividad fotosintética en hojas.

Otro mecanismo de acción frente al estrés abiótico involucra la interacción con el ácido abscísico (ABA) y el óxido nítrico. El efecto del ABA sobre las PAs varía según la especie, por lo cual la relación entre ambos tipos de compuestos es compleja y no está aun completamente entendida (Calzadilla et al., 2014). Toumi et al. (2010) observaron que en condiciones de sequía el ABA promueve la acumulación de PAs en hojas de vid y al mismo tiempo, induce la vía de oxidación en el apoplasto, lo que genera H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Éste, a su vez integra la vía de señalización para iniciar una respuesta frente al estrés hídrico. Entre las moléculas que participan en la señalización mediada por ABA, el óxido nítrico es un importante intermediario (Vidal Aguilar et al., 2015). Tun et al. (2006) demostraron que las PAs inducen la síntesis del óxido nítrico en plántulas de *Arabidopsis thaliana*. Wimalasekera et al. (2011) propusieron su biosíntesis como resultado del catabolismo de las PAs a través de las PAO y las Cu-amino oxidasas.

Los factores de transcripción también están relacionados con las PAs en la adaptación a distintos tipos de estrés abiótico. Tang et al. (2007) observaron que la sobreexpresión de CaPF1 (una proteína relacionada a la tolerancia a patógenos y congelamiento en *Capsicum annuum*) previno la disminución de las PAs y permitió un aumento significativo en la tolerancia a la sequía, la congelación y estrés salino.

En general, las investigaciones realizadas sobre el rol de las PAs durante condiciones de estrés en las plantas, indican un incremento de su contenido y una mejora de la tolerancia a las condiciones estresantes (Alcázar et al., 2010; Menéndez et al.,

---

2013). Sin embargo, existen investigaciones en las cuales el nivel de PAs no estuvo relacionado con la respuesta adaptativa de las plantas a condiciones de estrés o inclusive mostró una correlación negativa (Potossin y Shabala, 2014). Asimismo, el exceso de acumulación de PAs en algunos casos debido a la sobreexpresión de algunos genes, puede ser peligroso para las células vegetales. Por lo tanto, es difícil establecer una relación directa y general entre los niveles de PAs, en especial en forma individual, y la tolerancia al estrés abiótico (Pál et al., 2015). Sin embargo, existen evidencias suficientes sobre la relación entre la tolerancia al estrés de las plantas y el efecto protector de las PAs debido a su contenido endógeno, la aplicación exógena o la manipulación de su biosíntesis y vías metabólicas.

### ***1.5.5 Estrés oxidativo y metabolismo de poliaminas***

Es conocido que todo tipo de estrés, biótico y abiótico conduce a la formación de EROs, las cuales, pueden producir finalmente estrés oxidativo dependiendo de la intensidad y duración del estrés. Estas EROs pueden causar peroxidación de lípidos, desnaturalización de proteínas y mutación de ADN. Para atenuar los efectos nocivos de las EROs, las plantas han desarrollado una gran variedad de compuestos antioxidantes los cuales se correlacionan con su habilidad de tolerar esas condiciones de estrés (Calzadilla et al., 2014).

Se ha reportado que las PAs mejoran la tolerancia a la sequía a través de la activación del sistema antioxidante tanto enzimático (Kubiś, 2008) como no enzimático a través del aumento del contenido de prolina, antocianinas y compuestos fenólicos (Faroq et al., 2010). Estos mecanismos reducen los niveles de EROs y estabilizan las estructuras de las membranas (Kubiś, 2008). Según Ahmad et al. (2012) la acumulación de PAs durante condiciones de estrés ambiental está asociada a un incremento de los niveles de enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa y catalasa.

Faridduddin et al. (2013) proponen que las plantas tratadas con PAs podrían ser más tolerantes al estrés oxidativo. Se ha observado que la Spm funciona directamente como un secuestrador de radicales libres (Ha et al., 1998). Estudios realizados por Kubiś (2005) demostraron que el tratamiento exógeno con Spd causó una reducción sustancial en el contenido de EROs y de ese modo la disminución del estrés oxidativo en cebada bajo condiciones de déficit hídrico. La Spd tiene dos funciones en la tolerancia al estrés en

---

las plantas, uno como un compuesto protector y el otro como señal de la condición de estrés (Kasukabe et al., 2004).

Numerosos estudios han enfatizado la complejidad de la relación entre las PAs y las EROs, en especial cuando las plantas se encuentran bajo condiciones de estrés (Gill y Tuteja, 2010a; Pottosin et al., 2014). En general, cuando aumenta el contenido celular de PAs, su catabolismo también se incrementa y por ende se produce un aumento del nivel de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, otras EROs y la inducción del sistema antioxidante (enzimático y no enzimático). Las PAs otorgan una mayor tolerancia contra diferentes tipos de estrés que inducen a la formación del potente anión superóxido, el cual causa daño oxidativo a nivel celular (Bouchereau et al., 1999; Groppa et al., 2007). El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> producido en su catabolismo participa como señal en la cadena de transducción para una respuesta de defensa antioxidante e interviene en la producción de lignina en el apoplasto adyacente a la membrana plasmática (Moschou et al., 2008); pero, alternativamente, puede actuar como un agente pro-oxidante (Fariduddin et al., 2013).

La interacción de las PAs, las EROs y los antioxidantes es quizás uno de los mecanismos fisiológicos y bioquímicos más complejos en las plantas (Minocha et al., 2014).

### ***1.5.6 Rol de las poliaminas durante la poscosecha y conservación de frutos***

El etileno es una de las hormonas vegetales que más ha sido estudiada en relación a las PAs. Ambos metabolitos juegan un papel antagonista en los procesos vegetales. Mientras que las PAs inhiben la senescencia de hojas (Kaur-Sawhney et al., 1982) y la maduración de los frutos (Kakkar y Rai, 1993), el etileno promueve estos procesos (Kaur-Sawhney et al., 2003). Las PAs y el etileno regulan mutuamente su síntesis, posiblemente a través de la competencia por SAM, su precursor común. Las PAs inhiben la síntesis de etileno, bloqueando la conversión de la SAM a ácido 1-aminociclopropil 1-carboxílico (ACC) y de ACC a etileno. El etileno, por otra parte es un eficaz inhibidor de la ADC y de la SAMDC, enzimas claves en la síntesis de las PAs. Por lo tanto, las PAs pueden afectar la senescencia y la maduración de los frutos a través de la modulación de la síntesis de etileno (Kaur-Sawhney et al., 2003).

Diversos reportes indican que elevados niveles de PAs son beneficiosos para el mantenimiento de la calidad durante la poscosecha en frutos y vegetales (Kramer et al., 1991). El almacenamiento en atmósfera controlada ha mostrado el incremento del nivel

---

de PAs respecto a la conservación en atmósfera convencional en manzanas (Kramer et al., 1989). Aplicaciones de Spm mostraron un retraso en la pérdida de firmeza en manzanas Red Delicious (Wang y Kramer, 1989). Kramer et al. (1991) realizaron ensayos de infiltración a presión de PAs en manzanas McIntosh y Golden Delicious. Se observó un incremento en la firmeza de pulpa en forma inmediata y una disminución de la tasa de pérdida de firmeza durante la conservación a 0°C. Dichos investigadores indican que la naturaleza policatiónica de las PAs permite estabilizar la pared celular y hacerla menos accesible a la acción enzimática.

La aplicación de PAs exógenas reduce la síntesis de etileno, aumentando la vida postcosecha, manteniendo la calidad, sosteniendo la firmeza de fruta, evitando la pérdida de agua, retrasando los cambios de color, sólidos solubles y acidez titulable, y protegiendo a la fruta contra el daño por frío y mecánico (Malik et al., 2006). Martínez-Romero et al. (2002) estudiaron los efectos de la aplicación de Put sobre damascos cv. Mauricio dañados mecánicamente y luego almacenados a 10 °C durante 6 días. Los frutos tratados, tanto dañados o en buen estado, presentaban mayor firmeza de pulpa, retraso en los cambios de color, menor pérdida de peso, así como una disminución de la producción de etileno y la tasa respiratoria. Evaluaciones realizadas en zuchini determinaron que entre las PAs utilizadas para tratamientos de frutos para conservación, Put es la de mayor protección contra el daño por frío y menor reducción de peso durante el almacenaje. También pudieron determinar que los frutos tratados con PAs presentaban un menor contenido de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs) y de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> cuando los frutos fueron conservados a 4°C, respecto al control (Palma et al., 2015).

---

## 2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El daño por sol es un desorden fisiológico de tipo oxidativo que ocurre en frutos de manzano expuestos a radiación solar excesiva. La exposición de los frutos a la radiación solar produce reacciones bioquímicas y fotoquímicas que afectan los frutos de manzana en diversos niveles: provocan cambios morfológicos, alteran la composición de los pigmentos, influyen en los mecanismos de adaptación, deterioran el proceso de fotosíntesis, y por lo tanto, disminuyen la calidad de la fruta (Racskó y Schrader, 2012). En la región del Alto Valle de Río Negro, donde se produce el 85% de la manzana argentina (Colamarino, 2010), se registra un porcentaje de fruta con daño por asoleamiento que puede alcanzar al 50% según la temporada y las variedades evaluadas (Colavita, 2008). La región presenta condiciones predisponentes para el desarrollo de este desorden debido a que presenta altos valores de radiación solar en forma conjunta con altas temperaturas (Colavita et al., 2005).

Los frutos en los cuales se produce daño por sol durante su crecimiento a campo, tienen mayor predisposición a desarrollar fisiopatías durante el almacenamiento en poscosecha (Tartachnyk et al., 2012). El escaldado por sol se observa durante el almacenamiento en frío en la superficie de los frutos que presentan al momento de cosecha daño por sol (Contreras et al., 2008). Por ello, el daño por sol es un desorden de suma importancia para la producción frutícola, ya que puede llegar a provocar entre un 40-50% de pérdidas económicas por descarte de manzanas para exportación (Yuri et al., 2008).

El daño por sol en frutos ha sido materia de estudio a nivel agronómico durante muchos años, pero las investigaciones a nivel bioquímico y molecular han cobrado importancia en los últimos años, permitiendo abordar los distintos mecanismos de defensa antioxidante tales como pigmentos, enzimas antioxidantes, proteínas de choque térmico, etc. (Racskó y Schrader, 2012). Las PAs son policones de bajo peso molecular que se encuentran en todos los seres vivos (Cohen, 1998) y han sido evaluadas como antioxidantes bajo condiciones ambientales adversas (Groppa y Benavides, 2008). Desde hace más de 40 años existe información sobre la relación entre condiciones de estrés abiótico en plantas y las PAs. Desde entonces, ha habido cierta controversia sobre el efecto protector de las PAs contra el estrés abiótico debido a su capacidad antioxidante, o la posibilidad de causar daño debido al peróxido de hidrógeno producido por su catabolismo (Minocha et al., 2014). En general, las investigaciones realizadas sobre el rol

---

de las PAs durante condiciones de estrés en las plantas indican un incremento de su contenido y una mejora de la tolerancia a las condiciones estresantes (Menéndez et al., 2013). En frutos de manzana no existen estudios a nivel mundial que relacionen el efecto del estrés oxidativo por elevada radiación solar sobre el contenido de PAs y su influencia sobre otras fisiopatías durante la conservación en frío. Por consiguiente, las pérdidas económicas ocasionadas por el desorden de daño por sol en frutos de manzana debido a las condiciones climáticas predisponentes en la región del Alto Valle y los estudios insuficientes sobre el rol de las PAs en este contexto, justifican profundizar el conocimiento de las mismas como una estrategia para la protección de los frutos de manzana frente al estrés oxidativo por alta radiación solar.

---

### **3. HIPÓTESIS**

El estrés oxidativo generado por elevada radiación solar durante el crecimiento de frutos de manzana induce el aumento en el contenido de poliaminas y la capacidad antioxidante en la madurez y durante la conservación.

---

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo general**

Estudiar la participación de las poliaminas en la respuesta antioxidante en frutos de manzana desarrollados en condiciones de estrés por elevada radiación solar durante la madurez y la conservación en frío.

### **4.2 Objetivos específicos**

- Identificar las variaciones en el contenido de poliaminas en la piel de frutos con daño oxidativo por alta radiación solar en diferentes cultivares de manzana.
- Determinar la evolución de la concentración de poliaminas y la capacidad antioxidante durante la conservación en frío en frutos de manzana con síntomas de estrés por alta radiación solar.
- Asociar el contenido de poliaminas y la capacidad antioxidante en el desarrollo de fisiopatías de poscosecha en piel de frutos de manzana con daño por sol.

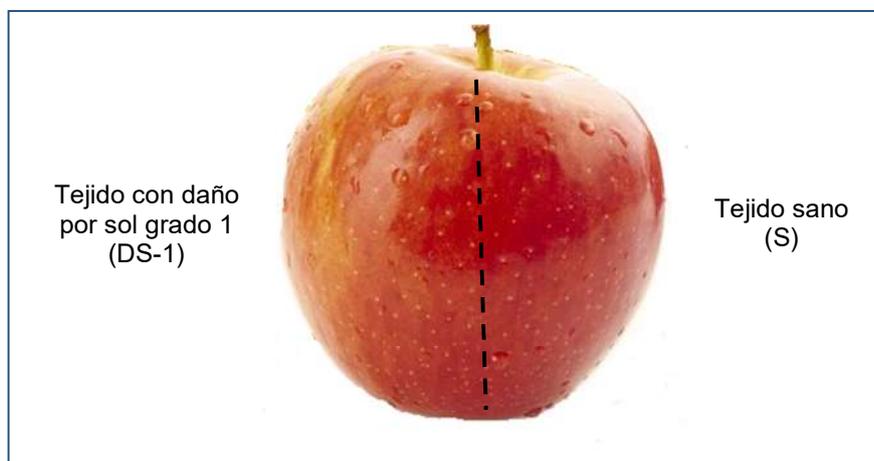
---

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. Material vegetal

Para la realización del estudio se utilizaron frutos de manzana (*Malus domestica* Borkh) correspondiente a los cultivares Gala, Red Delicious, Fuji y Cripp's Pink los cuales presentan piel roja o bicoloreada y los cultivares Granny Smith y Golden Delicious con un color de piel verde y amarillo, respectivamente. Los frutos fueron cosechados en plantaciones comerciales en plena producción de establecimientos ubicados en la zonas de Cipolletti, entre 3-7 días luego de la fecha oficial de inicio de cosecha indicada por SENASA.

En cada cultivar se seleccionaron frutos con un sector de piel con síntomas visibles de daño por sol grado 1 (DS-1), según la clasificación de Shrader et al. (2003). Este sector presentó un área de color amarillo o con un ligero descoloramiento, sin zonas de color marrón o necróticas. El sector opuesto a DS-1 se correspondió con tejido visualmente sano (S) (Foto 4).



**Foto 4.** Sector de piel en frutos de manzana con síntomas visibles de daño por sol grado 1 (DS-1) y sector opuesto con tejido sano (S).

---

## 5.2 Período de evaluaciones y acondicionamiento de la fruta

Para el estudio de las variaciones en el contenido de PAs en la piel de frutos con daño oxidativo por alta radiación solar de diferentes cultivares de manzana se realizaron los análisis fisiológicos y bioquímicos a los 2 días post recolección. Hasta el momento de la evaluación, los frutos fueron conservados a 5°C. En forma previa a cada determinación, los frutos fueron lavados con agua destilada y secados con papel absorbente, de manera de retirar los residuos provenientes del monte frutal.

Para el estudio de la evolución en la concentración de PAs y compuestos antioxidantes durante la conservación en frío de frutos con DS-1, se cosecharon 400 frutos del cultivar Granny Smith y 400 frutos del cultivar Cripp's Pink. Ambos cultivares se seleccionaron para el estudio durante la conservación ya que presentan diferente color de piel, un potencial de mediana a larga conservación y diferente susceptibilidad al daño por sol y a fisiopatías de poscosecha como la escaldadura de sol y escaldadura superficial. Granny Smith es altamente sensible y Cripp's Pink es poco susceptible a estos desórdenes (Tsantili et al., 2007; Ahn et al., 2007; Contreras et al., 2008; Racskó y Schrader, 2012).

Los frutos fueron acondicionados para su almacenaje en frío y tratados con una solución de Captan (50% p/v) a una dosis de 40 g/100 l, para el control de enfermedades fúngicas durante el período de conservación. Para cada cultivar se embalaron 4 cajas de 100 frutos cada una y fueron colocadas en una cámara frigorífica de un establecimiento comercial para su conservación en atmósfera convencional a 0°C +/- 1°C y humedad relativa de 95%. A los 90, 120, 150 y 180 días de conservación se retiraron frutos para su evaluación.

## 5.3 Evaluaciones de índices de calidad

Se realizaron evaluaciones de los índices de calidad en el estado de madurez y durante la conservación en frío con el objeto de caracterizar física y químicamente los tejidos utilizados en las determinaciones bioquímicas. Los parámetros cuantificados fueron: firmeza de pulpa, concentración de sólidos solubles y acidez titulable. El test de degradación de almidón fue sólo realizado al momento de madurez.

---

### **5.3.1 Firmeza de pulpa**

La firmeza de pulpa se determinó sobre un total de 20 frutos a través de un presiómetro Effegi modelo 327 (Italia), con émbolo de 11,1 mm. Se retiró la piel y se realizaron dos lecturas en la zona ecuatorial, una en el tejido S y otra en el tejido con DS-1 (Mitcham et al., 1996). Los resultados fueron expresados en libras.pulg<sup>-2</sup>.

### **5.3.2 Sólidos solubles y acidez titulable**

Para la determinación de la concentración de sólidos solubles y la acidez titulable se realizó la extracción de jugo en forma independiente del sector S y del sector con DS-1 en los 20 frutos anteriormente mencionados.

Los sólidos solubles se cuantificaron utilizando un refractómetro ERMA 0-32% (Tokio, Japón) y los resultados se expresaron en grados Brix (Mitcham et al., 1996).

La acidez titulable se realizó en 4 muestras de 10 ml cada una compuesta por el jugo de 5 frutos. Se realizó una dilución con agua destilada llegando a 100 ml de solución. A partir de la misma, mediante titulación con NaOH 0,1N hasta pH 8,2 medido con un pHmetro digital se obtuvo la acidez titulable y se expresó como % de ácido málico (Mitcham et al., 1996)

### **5.3.3 Test de degradación de almidón**

La cuantificación de la degradación de almidón se realizó a través de la prueba con reactivo de Lugol (0,33% de yodo + 0,66% de yoduro de potasio). Los frutos fueron cortados en la región ecuatorial y la mitad que contenía el pedúnculo fue inmersa en la solución de Lugol durante 1 minuto. Cuando se retiraron de la solución, fueron comparados con los valores de la carta de test de almidón de INTA, donde 0% indica el tenor máximo de almidón, mientras que 100% indica ausencia del mismo. El análisis del porcentaje de degradación de almidón se realizó en forma independiente en el sector con tejido S y el sector con DS-1.

---

## 5.4 Determinaciones bioquímicas

Todas las determinaciones bioquímicas se realizaron en 6 repeticiones de un fruto cada una. En cada fruto se tomaron muestras de la piel + 1mm de pulpa correspondiente al sector S y al sector DS-1 en forma independiente.

### 5.4.1 Clorofila a y b

El contenido de clorofila en la piel de los frutos se realizó a través de la extracción con dimetilsulfóxido (DMSO) y la cuantificación a través de espectrofotometría. Se extrajeron con sacabocado 3 discos de piel de 10 mm de diámetro. Los discos fueron pesados y colocados en un tubo de ensayo con 3 ml de DMSO. Se colocaron las muestras en estufa a 65 °C durante 2 horas. Pasado el tiempo de reacción, se dejó enfriar durante 15 min y se procedió a medir la absorbancia de clorofila A a 665,1 nm y clorofila B a 649,1 nm en un espectrofotómetro UV-Vis DU-80 Beckman Coulter (Alemania).

Con los valores de absorbancia, se determinó el contenido de clorofila por medio de las ecuaciones propuestas por Wellburn (1994).

$$\text{Clorofila A} = 12,47 \cdot A^{665,1} - 3,62 \cdot A^{649,1}$$

$$\text{Clorofila B} = 25,06 \cdot A^{649,1} - 6,50 \cdot A^{665,1}$$

### 5.4.2 Poliaminas libres

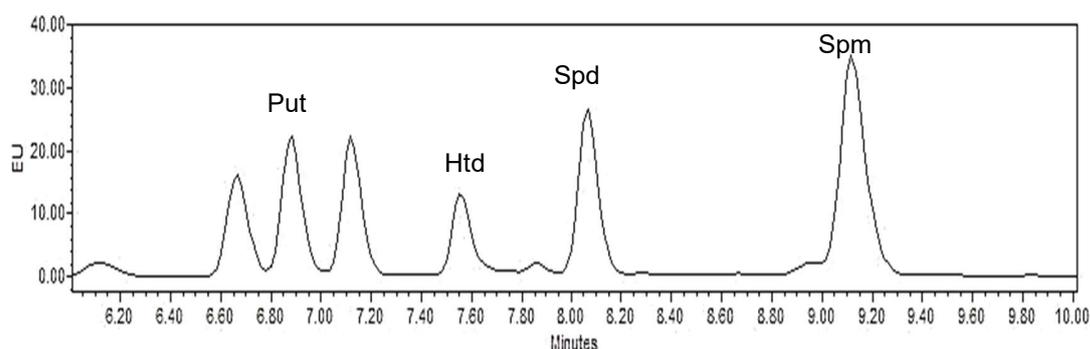
La determinación de la concentración de PAs libres se efectuó a través de la derivatización con cloruro de dansilo y su separación mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de acuerdo a la metodología propuesta por Campestre et al. (2011).

La extracción se realizó en 0,25 g de piel de frutos de manzana que fueron homogeneizados en mortero con 2 ml de ácido perclórico 0,2 N. El extracto obtenido se colocó en baño de hielo durante 1 hora y luego se centrifugó durante 15 min a 14.000 rpm a 4°C. El sobrenadante fue separado y colocado en freezer a -20°C para su posterior dansilación.

Para la dansilación se tomaron 60  $\mu$ l del extracto descongelado y se le añadieron 6  $\mu$ l de Heptanodiamina (Htd) 0,1mM como estándar interno. Se le añadieron 60  $\mu$ l de una solución de carbonato sódico saturada y 75  $\mu$ l de una solución de cloruro de dansilo en acetona (10 mg/ml). Se colocó en estufa a 70°C durante una hora y luego se enfrió en baño de hielo. La dansilación se detuvo con el agregado 20  $\mu$ l de prolina (100mg/ml de agua destilada) dejando incubar durante 30 min a temperatura ambiente y protegido de la luz. Luego, los derivados dansilados se extrajeron añadiendo a la mezcla de reacción 200  $\mu$ l de tolueno, agitando en vortex y centrifugando 5 min a 10.000 rpm a 20°C para separar las dos fases. Se extrajeron 175  $\mu$ l de la fase orgánica que fue evaporada mediante vacío y resuspendida en 40  $\mu$ l de acetonitrilo previamente filtrado. Las muestras fueron agitadas en vortex y luego centrifugadas 10 min a 10.000 rpm.

La separación de PAs dansiladas se realizó mediante un cromatógrafo HPLC Waters 1525. Se utilizó una columna de fase reversa Luna (2) C18 (Phenomenex) y la detección se realizó con un espectrofluorómetro Waters 2475 a una longitud de onda de 415 nm de excitación y 510 nm de emisión. El flujo del solvente fue de 1,5 ml/min y el gradiente de acetonitrilo–H<sub>2</sub>O 70:30 (0–4,5 min) acetonitrilo 100 (4,5–9 min), acetonitrilo–H<sub>2</sub>O 70:30 (9–15 min). En la Figura 11 se observan los tiempos de retención correspondientes a Put (6,85 min), Htd (7,55 min), Spd (8,08 min) y Spm (9,17 min).

Los cálculos de las concentraciones se realizaron integrando el área de los picos del cromatograma normalizados según el área de Htd e interpolados con la curva de calibración de las PAs estándar (Figura 11).



**Figura 11.** Tiempos de retención de las diferentes poliaminas (Put, Spd y Spm) y estándar (Htd) a través de la separación por HPLC.

---

### 5.4.3 Peroxidación de lípidos

La peroxidación de lípidos fue medida en términos de concentración de TBARs principalmente MDA a través de la reacción con el ácido tiobarbitúrico (TBA) (Hodges et al., 1999). Se homogeneizó 0,25 g de piel con 2 ml de ácido tricloroacético (TCA) 0,1%. El homogenato fue centrifugado a 10.000 rpm por 5 min. Una alícuota de 0,5 ml del sobrenadante se colocó en un tubo de ensayo y se le adicionó 2 ml de TCA 20% (TBA-). Otra alícuota de 0,5 ml fue colocada en otro tubo de ensayo con una solución de 0,1% de TBA realizada a partir de TCA 20% (TBA+). Ambos tubos fueron calentados en baño de agua a 95 °C por 30 min y luego rápidamente enfriados en hielo. Luego se centrifugaron a 10.000 rpm durante 10 min y se determinó la absorbancia del sobrenadante a 532 nm en un espectrofotómetro UV-Vis DU-80 Beckman Coulter (Alemania). Se sustrajo el valor de absorbancia no específica por turbidez leído a 440 nm y a 600 nm. Las mismas lecturas se realizaron para las muestras sin reaccionar con el TBA. Este último valor se restó al anterior, eliminando de esa manera la interferencia de pigmentos y otros compuestos que absorben a la misma longitud de onda. Se utilizó un coeficiente de extinción molar del MDA a 532 nm de 157 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>. La absorción molar de la sacarosa a 532 nm y a 440 nm es de 8,8 y 147,0 respectivamente, dando una relación de 0,057 (e). La concentración de TBARs fue calculada como:

$$\text{TBARs (nmol/ml)} = [(A-C-B)/157000] \cdot 10^6$$

Dónde:

$$A = A_{\text{TBA+532}} - A_{\text{TBA+600}}$$

Estimación bruta de MDA

$$B = (A_{\text{TBA+440}} - A_{\text{TBA+600}}) \cdot e$$

Interferencia por sacarosa

$$C = A_{\text{TBA-532}} - A_{\text{TBA-600}}$$

Interferencia por antocianinas

### 5.4.4 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó usando el método del 2,2, difenil-2-picril-hidrazil (DPPH) desarrollado por Brand-Williams et al. (1995). Se disolvió DPPH en metanol 100% y se ajustó a 1,1 de absorción a 515 nm. Se homogeneizó 0,25 g de piel de

---

manzana en nitrógeno líquido con HCl: metanol (0,5%), se agitó a 150 rpm a 20°C durante 2 horas y se centrifugó a 12.000 rpm durante 20 min. Una alícuota de 40 µl del sobrenadante se diluyó en 120 µl de agua bidestilada. Luego se extrajeron 20 µl de la solución y se le incorporaron 780 µl de la solución metanólica de DPPH para constituir la muestra A<sub>B</sub>. Se realizó un blanco (A<sub>A</sub>) con 20 µl de agua bidestilada con 780 µl de solución de DPPH. A<sub>A</sub> y A<sub>B</sub> se incubaron durante 30 min en la oscuridad a 4°C. La disminución en la absorbancia se determinó a 515 nm. La actividad antioxidante de las muestras fue evaluada a través de su capacidad de reducción del radical libre-DPPH y fue expresada como porcentaje de inhibición de DPPH.

$$\text{Porcentaje de inhibición} = [(A_B - A_A) / A_B] * 100$$

Un incremento en el porcentaje de inhibición se corresponde con el aumento de la capacidad antioxidante.

#### **5.4.5 *α*-Farnesenos y trienos conjugados**

Las determinaciones de AF y TC se realizaron siguiendo el método descrito por Anet (1972). Se extrajeron con sacabocado 5 discos de piel de 10 mm de diámetro. Luego fueron colocados en 10 ml de hexano grado HPLC y mantenidos en agitación a 120 rpm y 20°C durante 10 min. Luego, 1 ml de esta solución fue diluido en 4 ml de hexano. Las mediciones se realizaron un espectrofotómetro UV-Vis DU-80 Beckman Coulter (Alemania), previamente calibrado con hexano de grado HPLC. Se registró la absorbancia a 232 nm correspondiente a AF y a 281-290 nm para TC. Las concentraciones se calcularon usando el coeficientes de extinción molar a 232 nm = 27.700 y 281-290 nm = 25.000 para para AF y TC respectivamente (Huelin y Coggiola, 1968; Anet, 1972; Du y Bramlage, 1993).

---

## 5.5 Evaluación de desórdenes fisiológicos durante la conservación en frío

Para la evaluación visual de los desórdenes fisiológicos se consideró el sector S y DS-1 en forma independiente. Estas determinaciones se realizaron sólo en el cultivar Granny Smith. Cripp's Pink no presentó desarrollo de escaldadura superficial ni escaldadura por sol.

### 5.5.1 Escaldadura por sol

La evolución de la escaldadura por sol se realizó visualmente cuantificando la incidencia y severidad (Contreras et al., 2008) en un total de 20 frutos en cada período evaluado (90, 120, 150 y 180 días). La evaluación se realizó en dos momentos: a 1 día de remoción de los frutos de la cámara frigorífica y luego de 7 días a 20°C. La incidencia del daño se estimó como porcentaje de frutos afectados. La severidad del daño correspondió al área afectada del fruto según una escala de cambio de color de amarillo a pardo propuesta. En la Foto 5 se observa la escala, donde grado 1 corresponde a la menor severidad de mancha hasta el grado 4, el cual corresponde a la mayor severidad. Los resultados fueron expresados como porcentaje de frutos afectados en cada uno de los grados indicados.



Grado 1

Grado 2

Grado 3

Grado 4

**Foto 5.** Escala de clasificación de severidad de escaldadura por sol en Granny Smith. Grado 1-4 va de menor a mayor severidad.

---

### 5.5.2 Escaldadura superficial

La incidencia de la escaldadura superficial se determinó en forma visual en un total de 20 frutos en cada periodo evaluado (90, 120, 150 y 180 días). Los frutos fueron clasificados según el porcentaje del sector S afectado según los siguientes grados: Grado 1 (menos de 25%), Grado 2 (entre el 25% y el 50%), Grado 3 (entre el 50% y el 75%), Grado 4 (más del 75%). Los resultados fueron expresados como porcentaje de frutos afectados en cada uno de los grados indicados (Sangiacomo et al., 1995).

### 5.6 Análisis estadístico

La evaluación estadística de resultados se realizó aplicando modelos lineales generales y mixtos a través del programa estadístico InfoStat en interfase con la plataforma R (Di Rienzo et al., 2015).

Se generaron modelos independientes para el análisis de resultados obtenidos en los diferentes cultivares al estado de madurez y para cada uno de los parámetros estudiados durante la conservación en frío.

Los ajustes se realizaron especificando como efectos fijos el nivel de daño en los tejidos (S y DS-1) y el tiempo de conservación (0, 90, 120, 150 y 180 días). Los frutos fueron considerados un efecto aleatorio debido a que las mediciones de cada parámetro fueron realizadas en tejido S y DS-1 de un mismo individuo.

Para el análisis de los parámetros evaluados en el estado de madurez se propuso el siguiente modelo y supuestos:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \gamma_j + \varepsilon_{ij}$$

$$i = S, DS1; j = 1,2,3 \dots 6$$

$$\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$$

$$\gamma_j \sim N(0, \xi^2)$$

Donde  $y_{ij}$  es la variable respuesta al  $i$ -ésimo nivel de daño en el  $j$ -ésimo fruto,  $\mu$  es la media general para ese parámetro,  $\tau_i$  los efectos fijos correspondientes al nivel de daño,  $\gamma_j$  el efecto aleatorio del  $j$ -ésimo fruto y  $\varepsilon_{ij}$  el término error asociado a la  $y_{ij}$ .

---

Para la evaluación durante la conservación en frío se consideró la interacción entre el nivel de daño y el tiempo de conservación y se propuso el siguiente modelo y supuestos:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \delta_j + (\tau * \delta)_{ij} + \gamma_k + \varepsilon_{ijk}$$

$$i = S, DS1; j = 0, 90, 120, 150, 180; k = 1, 2, 3 \dots 6$$

$$\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$$

$$\gamma_j \sim N(0, \xi^2)$$

Donde  $y_{ij}$  es la variable respuesta al  $i$ -ésimo nivel de daño, en el  $j$ -ésimo tiempo de conservación, del  $k$ -ésimo fruto,  $\mu$  es la media general para ese parámetro,  $\tau_i$  los efectos fijos correspondientes al nivel de daño,  $\delta_j$  los efectos fijos correspondientes al  $j$ -ésimo tiempo de conservación,  $(\tau * \delta)_{ij}$  la interacción entre nivel de daño y tiempo de conservación,  $\gamma_k$  el efecto aleatorio del  $j$ -ésimo fruto y  $\varepsilon_{ijk}$  el término error asociado a la  $y_{ijk}$ .

A partir de los parámetros ajustados se realizó un análisis de varianza, donde las comparaciones múltiples entre medias se realizaron a partir del test LSD de Fisher ( $p < 0,05$ ) en las evaluaciones del estado de madurez y el test DGC ( $p < 0,05$ ) (Di Rienzo et al., 2002) para el estudio de la evolución en conservación. El proceso de selección de modelos finales generados para cada variable fue guiado por pruebas de cociente de verosimilitud y criterio AIC (criterio de Akaike).

La verificación del cumplimiento de supuestos del modelo se realizó a partir de apreciaciones gráficas (box-plots de residuos estudentizados, gráficos de residuos estudentizados versus predichos y Q-Q plot normales) y a través de la prueba de Shapiro Wilks (modificado) en base a los residuos para el caso de la distribución normal, y la prueba de Levene (Análisis de la varianza de los residuos absolutos) para el caso de la homogeneidad de las varianzas. En caso de incumplimiento del supuesto de homocedasticidad en los residuos, se consideraron modelos con varianzas residuales distintas para cada combinación de tratamientos considerados.

Los agrupamientos de cultivares según su contenido de PAs se obtuvieron a partir de un análisis de conglomerados y su correspondiente dendrograma utilizando el método del encadenamiento promedio y distancia Euclídea, considerando la correlación cofenética como guía para seleccionar el método de agrupamiento más adecuado. El análisis de conglomerados se realizó a partir del programa estadístico InfoStat (Di Rienzo et al., 2015).

---

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Contenido de poliaminas en la piel de frutos con daño oxidativo por alta radiación solar

#### 6.1.1 Caracterización físico-química de los tejidos

Los tejidos sobre los cuales se realizaron las determinaciones de PAs presentan variaciones en sus parámetros físico-químicos de calidad según el nivel de daño por sol que presentan. En la Tabla 1 se observan los índices de calidad del sector del fruto con DS-1 y S de seis cultivares de manzana. La firmeza de pulpa fue superior en forma estadísticamente significativa en DS-1 respecto al S en todos los cultivares estudiados. El sector asoleado de los frutos superó en 3,5 lb.pulg<sup>-2</sup> al sector S en Gala y Cripp's Pink. Granny Smith presentó 3,0 lb.pulg<sup>-2</sup> de diferencia y Golden Delicious, Red Delicious y Fuji, 1,7 lb.pulg<sup>-2</sup>, 1,2 lb.pulg<sup>-2</sup> y 1,5 lb.pulg<sup>-2</sup> respectivamente.

Los sólidos solubles presentaron también un aumento en el sector con DS-1 en relación al S con diferencias significativas. Los mayores incrementos se observaron en Granny Smith y Cripp's Pink con aumentos del 13% y 15% respectivamente y el menor se detectó en Fuji con un 4,5% de incremento respecto a S. El resto de los cultivares presentaron incrementos cercanos al 8%.

La degradación de almidón mostró incrementos significativos en DS-1 sólo en los cultivares Gala, Granny Smith y Cripp's Pink. Los porcentajes de degradación de almidón independientemente del nivel de daño considerado, fueron cercanos al 80% para Gala y Golden Delicious, y del 70% en Red Delicious y Cripp's Pink. Esto indica un estado de madurez más avanzado en estos cultivares respecto a Fuji y Granny Smith, los cuales presentaron valores de degradación de almidón del 40%.

La acidez titulable no presentó diferencias significativas entre los niveles de daño evaluados para los distintos cultivares.

**Tabla 1.** Índices de madurez en el sector de fruto con tejido sano (S) y con nivel de daño por sol 1 (DS-1) en diferentes cultivares de manzana al momento de madurez.

CULTIVAR	NIVEL DE DAÑO	Firmeza de pulpa (lb.pulg <sup>-2</sup> )	Sólidos solubles (° Brix)	Degradación de almidón (%)	Acidez titulable (%)
Gala	S	17,8 ± 1,03	13,3 ± 0,36	76,5 ± 2,99	0,36 ± 0,02
	DS-1	21,3 ± 1,05	14,4 ± 0,48	84,0 ± 3,48	0,34 ± 0,03
<i>p-valor</i>		0,0025	0,0376	0,0475	0,4825
Golden Delicious	S	15,5 ± 0,14	15,1 ± 0,40	71,7 ± 3,33	0,56 ± 0,02
	DS-1	17,2 ± 0,39	16,5 ± 0,37	81,7 ± 3,07	0,56 ± 0,02
<i>p-valor</i>		0,0063	0,0003	0,0785	0,0572
Red Delicious	S	14,6 ± 0,34	14,3 ± 0,51	64,0 ± 7,48	0,27 ± 0,02
	DS-1	15,8 ± 0,38	15,4 ± 0,59	76,0 ± 5,10	0,26 ± 0,01
<i>p-valor</i>		0,0019	0,0196	0,1087	0,6746
Fuji	S	15,6 ± 0,30	13,2 ± 0,09	42,5 ± 4,43	0,36 ± 0,01
	DS-1	17,1 ± 0,30	13,8 ± 0,17	51,7 ± 4,01	0,33 ± 0,01a
<i>p-valor</i>		0,0167	0,0190	0,0686	0,2302
Granny Smith	S	17,4 ± 0,29	10,7 ± 0,14	23,0 ± 3,52	0,88 ± 0,01
	DS-1	20,4 ± 0,39	12,1 ± 0,19	31,3 ± 3,10	0,81 ± 0,04
<i>p-valor</i>		<0,0001	<0,0001	0,0016	0,1613
Cripp's Pink	S	18,5 ± 0,26	13,9 ± 0,22	66,9 ± 3,00	0,78 ± 0,07
	DS-1	22,0 ± 0,55	16,0 ± 0,21	77,1 ± 2,92	0,77 ± 0,05
<i>p-valor</i>		<0,0001	<0,0001	0,0008	0,9223

Los datos corresponden a la media ± el error estándar.

El efecto de la radiación solar sobre el contenido de clorofila en la piel de los frutos fue variable según los cultivares estudiados y su color de superficie característico (Tabla 2). En forma general, en los cultivares rojos y/o bicoloreados se observaron incrementos en el contenido de clorofila total en la piel con DS-1 respecto al tejido S. Gala y Fuji aumentaron su concentración de clorofila total, en forma significativa un 61% y un 70%, respectivamente. Red Delicious mostró una tendencia al incremento de su contenido de clorofila aunque sin significancia estadística. En el caso de Cripp's Pink la concentración de clorofila total fue similar en ambos tejidos evaluados. Contrariamente a lo observado en los cultivares de pigmentación roja y/o bicolor, en Golden Delicious y Granny Smith el tejido con DS-1 redujo significativa del contenido de clorofila total en relación al tejido S. Esta disminución fue del 54% en Granny Smith y del 74% en Golden Delicious.

**Tabla 2.** Contenido de clorofila a, clorofila b, clorofila total y relación entre clorofila a y clorofila b en piel sana (S) y con nivel de daño por sol 1 (DS-1) en frutos de diferentes cultivares de manzana al momento de madurez.

CULTIVAR	NIVEL DE DAÑO	Clorofila a ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{PF}$ )	Clorofila b ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{PF}$ )	Clorofila total ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{PF}$ )	Clorofila a/b
Gala	S	4,6 $\pm$ 0,93	6,8 $\pm$ 1,51	11,4 $\pm$ 2,43	0,69 $\pm$ 0,04
	DS-1	7,7 $\pm$ 0,83	10,8 $\pm$ 1,65	18,4 $\pm$ 2,25	0,76 $\pm$ 0,11
	<i>p-valor</i>	0,0007	0,0153	0,0007	0,5469
Golden Delicious	S	6,8 $\pm$ 0,66	4,4 $\pm$ 0,60	11,2 $\pm$ 1,01	1,60 $\pm$ 0,24
	DS-1	1,4 $\pm$ 0,12	1,5 $\pm$ 0,25	2,9 $\pm$ 0,25	1,07 $\pm$ 0,21
	<i>p-valor</i>	0,0041	0,0185	0,0042	0,1917
Red Delicious	S	9,0 $\pm$ 0,80	6,2 $\pm$ 1,37	15,3 $\pm$ 2,07	1,56 $\pm$ 0,18
	DS-1	10,7 $\pm$ 0,21	10,0 $\pm$ 1,40	20,8 $\pm$ 1,34	1,15 $\pm$ 0,18
	<i>p-valor</i>	0,1244	0,0554	0,0792	0,0565
Fuji	S	3,5 $\pm$ 0,44	6,1 $\pm$ 0,98	9,6 $\pm$ 1,41	0,58 $\pm$ 0,03
	DS-1	5,1 $\pm$ 0,55	11,2 $\pm$ 1,22	16,3 $\pm$ 1,75	0,46 $\pm$ 0,02
	<i>p-valor</i>	0,0191	0,0058	0,0075	0,0259
Granny Smith	S	42,7 $\pm$ 3,08	19,9 $\pm$ 0,88	62,5 $\pm$ 3,74	2,14 $\pm$ 0,12
	DS-1	19,5 $\pm$ 3,38	9,0 $\pm$ 1,71	28,5 $\pm$ 4,86	2,23 $\pm$ 0,25
	<i>p-valor</i>	0,0071	0,0049	0,0052	0,7469
Cripp's Pink	S	5,5 $\pm$ 0,96	4,4 $\pm$ 1,37	9,9 $\pm$ 0,58	1,27 $\pm$ 0,14
	DS-1	5,8 $\pm$ 1,37	4,1 $\pm$ 0,44	10,0 $\pm$ 1,75	1,38 $\pm$ 0,24
	<i>p-valor</i>	0,8444	0,8295	0,9364	0,5084

Los valores presentados corresponden a la media  $\pm$  el error estándar.

En ninguno de los cultivares estudiados se observó un variación significativa en la relación entre el contenido de clorofila a y clorofila b, a excepción de Fuji. En este cultivar se produjo un incremento diferencial del 46% de la clorofila a y del 84% de la clorofila b en la piel con DS-1 respecto a S. Gala presentó aumentos del 60-70% en el contenido, tanto de clorofila a como de clorofila b en la piel con DS-1 respecto al sector S. A pesar de que en tejidos con DS-1 de Red Delicious se observaron tendencias de incrementos disímiles, del 19% de clorofila a y del 61% de clorofila b respecto a S, no hubieron diferencias estadísticas en su relación. La exposición a alta radiación solar también provocó en Granny Smith una reducción similar en ambos tipos de clorofila (55%), mientras que en Golden Delicious osciló entre 70-80% sin observarse diferencias significativas. En Cripp's

---

Pink el contenido de ambos tipos de clorofila no se vio afectado por el nivel de daño por sol en la piel.

### **6.1.2 Contenido de poliaminas**

En la piel de manzana de los seis cultivares evaluados, las PAs detectadas y cuantificadas fueron Put, Spd y Spm. Put fue la poliamina (PA) más abundante, seguida por Spd y finalmente Spm (Tabla 3).

Al comparar el contenido de PAs totales de la piel con DS-1 respecto al tejido S, se detectaron diferencias con significancia estadística en Red Delicious y Granny Smith. Red Delicious incrementó su contenido de 341,9 nmol.g<sup>-1</sup>PF a 531,1 nmol.g<sup>-1</sup>PF. Granny Smith registró 280,6 nmol.g<sup>-1</sup>PF en S y 391,9 nmol.g<sup>-1</sup>PF en DS-1. Los demás cultivares presentaron aumentos en el contenido de PAs totales, pero sin diferencias significativas.

No se detectaron diferencias significativas en el contenido de Put entre S y DS-1, a excepción del cultivar Red Delicious. En este caso se observó un incremento del 70% en este metabolito el tejido expuesto a alta radiación solar.

Red Delicious, Fuji, Granny Smith y Cripp's Pink presentaron en DS-1 incrementos estadísticamente significativos en la concentración de Spd del 39%, 115%, 64% y 89% respectivamente. En Gala y Golden Delicious no se registraron diferencias significativas en la concentración de Spd entre ambos niveles de daño.

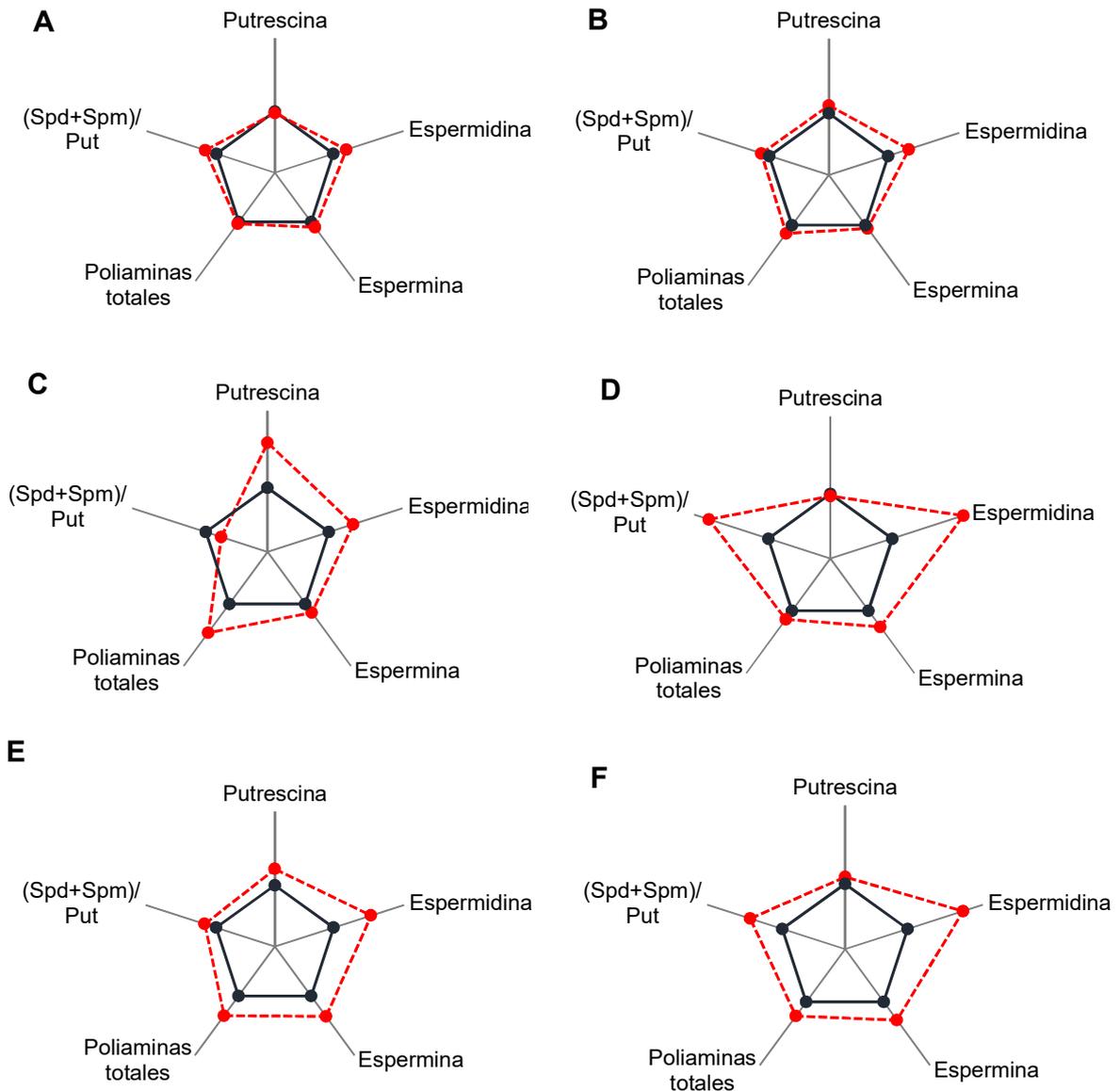
No se detectaron variaciones estadísticamente significativas en el contenido de Spm en DS-1 respecto a S en Gala, Golden Delicious y Red Delicious. Sin embargo, en Fuji, Granny Smith y Cripp's Pink, la elevada radiación solar produjo una acumulación de Spm en la piel con DS-1 respecto a S, con significancia estadística. La relación entre la Spd y Spm respecto a la Put presentó aumentos significativos para DS-1 en comparación a S exclusivamente en Gala y Fuji. La relación (Spd+Spm)/Put se incrementó de 0,41 a 0,49 en Gala y de 0,27 a 0,53 en Fuji.

**Tabla 3.** Contenido de Putrescina (Put), Espermidina (Spd), Espermina (Spm), Poliaminas (PAs) y relación (Spd+Spm)/Put en piel sana (S) y con nivel de daño por sol 1 (DS-1) en frutos de diferentes cultivares de manzana al

CULTIVAR	NIVEL DE DAÑO	Contenido de PAs (nmol.g <sup>-1</sup> PF)					(Spd+Spm)/Put
		Putrescina	Espermidina	Espermina	Poliaminas totales		
<b>Gala</b>	<b>S</b>	357,5 ± 50,4	100,1 ± 7,4	37,3 ± 1,9	495,0 ± 60,6	0,41 ± 0,04	
	<b>DS-1</b>	348,6 ± 39,8	122,2 ± 5,7	41,3 ± 1,6	512,1 ± 46,1	0,49 ± 0,04	
	<i>p-valor</i>	0,7857	0,0597	0,1692	0,6819	0,0321	
<b>Golden Delicious</b>	<b>S</b>	148,3 ± 24,0	47,9 ± 7,9	32,5 ± 0,7	228,7 ± 29,4	0,58 ± 0,05	
	<b>DS-1</b>	167,0 ± 31,6	64,6 ± 7,9	34,4 ± 0,9	266,0 ± 35,0	0,66 ± 0,08	
	<i>p-valor</i>	0,6566	0,1339	0,1413	0,4505	0,3639	
<b>Red Delicious</b>	<b>S</b>	206,9 ± 22,8	93,0 ± 2,4	42,0 ± 2,1	341,9 ± 23,7	0,68 ± 0,07	
	<b>DS-1</b>	352,4 ± 27,5	129,7 ± 4,6	49,0 ± 2,7	531,1 ± 31,9	0,51 ± 0,02	
	<i>p-valor</i>	0,0046	0,0026	0,1199	0,0030	0,0977	
<b>Fuji</b>	<b>S</b>	401,6 ± 48,8	74,0 ± 8,9	32,0 ± 1,3	507,7 ± 57,7	0,27 ± 0,02	
	<b>DS-1</b>	389,1 ± 59,6	159,0 ± 31,9	41,9 ± 4,0	590,0 ± 90,2	0,53 ± 0,06	
	<i>p-valor</i>	0,8775	0,0498	0,0485	0,4693	0,0101	
<b>Granny Smith</b>	<b>S</b>	159,0 ± 30,0	84,4 ± 3,8	37,2 ± 0,8	280,6 ± 32,1	0,82 ± 0,11	
	<b>DS-1</b>	201,4 ± 21,1	138,1 ± 13,9	52,4 ± 3,3	391,9 ± 25,5	0,98 ± 0,14	
	<i>p-valor</i>	0,3313	0,0277	0,0211	0,0308	0,4384	
<b>Cripp's Pink</b>	<b>S</b>	289,0 ± 31,2	71,6 ± 11,4	29,4 ± 1,0	389,9 ± 34,6	0,37 ± 0,07	
	<b>DS-1</b>	319,2 ± 24,0	135,0 ± 9,6	39,3 ± 1,5	493,5 ± 30,5	0,56 ± 0,04	
	<i>p-valor</i>	0,4784	0,0080	0,0023	0,0748	0,0675	

Los valores presentados corresponden a la media ± el error estándar.

En la Figura 12 se puede visualizar en forma integral las variaciones encontradas en el contenido total de PAs, las diferencias de cada PA individual y la relación  $(\text{Spd}+\text{Spm})/\text{Put}$  en la piel con DS-1 respecto a S, para cada uno de los cultivares estudiados.



**Figura 12.** Variación del contenido relativo de poliaminas en piel con nivel de daño por sol 1 (DS-1) - - - - respecto a piel sana (S) — en frutos de diferentes cultivares de manzana al momento de madurez. A: Gala; B: Golden Delicious; C: Red Delicious; D: Fuji; E: Granny Smith; F: Cripp's Pink.

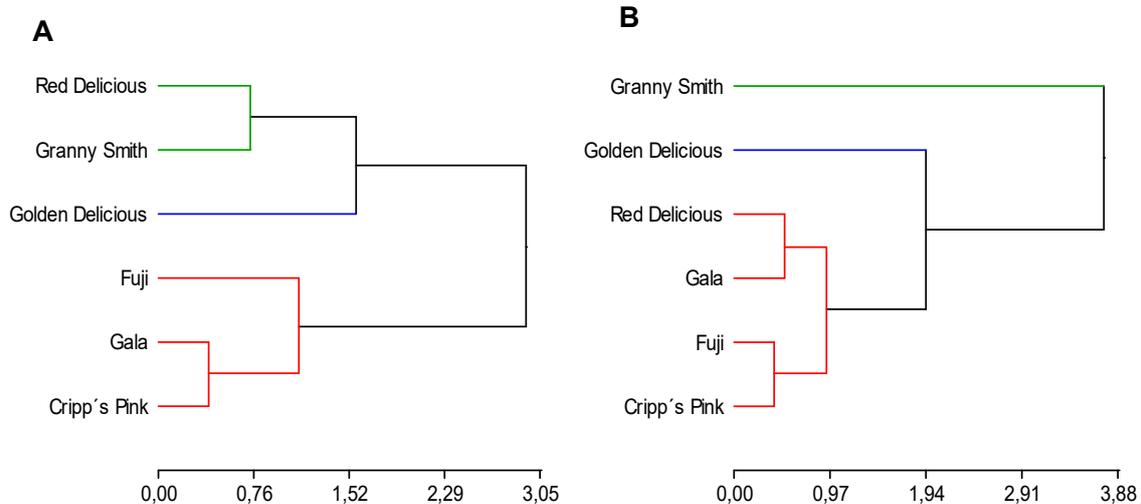
---

En Gala (Figura 12 A) la piel con DS-1 no modificó esencialmente su contenido de PAs respecto al tejido S. Se puede observar un leve aumento del contenido de Spd, que provoca una variación en la relación entre PAs individuales. En Golden Delicious (Figura 12 B), se observan algunas variaciones en el contenido de Put y Spd en la piel con DS-1 en relación a la piel S, sin embargo, estas variaciones no fueron significativas. En cambio, en Red Delicious (Figura 12 C) se observa que la elevada radiación solar produce modificaciones sustanciales en el contenido de PAs incrementándose significativamente la Put y la Spd, y por consiguiente las PAs totales. En la Figura 12 D se observa en Fuji un aumento significativo de la Spd y de la Spm en DS-1, lo cual produce una relación  $(Spd+Spm)/Put$  más alta, ya que no aumenta en forma equitativa el contenido de Put. En Granny Smith (Figura 12 E) y Cripp's Pink (Figura 12 F) se produce un aumento en el contenido de Spd y Spm en DS-1 respecto a S.

En forma general se puede observar que algunos cultivares tales como Gala y Golden Delicious, escasamente modifican su contenido de PAs en piel cuando presentan síntomas de asoleado de nivel 1. El resto de los cultivares cuando fueron sometidos a elevada radiación solar incrementaron su concentración de PAs en piel. No obstante, las PAs individuales afectadas en los distintos cultivares presentaron algunas diferencias. Mientras que en Fuji, Granny Smith y Cripp's Pink se producen aumentos importantes de Spd y Spm en el tejido con DS-1, y no se modifica la concentración de Put, en Red Delicious se incrementa en forma sustancial el contenido de Put y Spd. Este comportamiento sólo fue observado en este cultivar.

### **6.1.3 Agrupamiento de cultivares según contenido de poliaminas**

A partir del contenido relativo de Put, Spd y Spm de los seis cultivares estudiados, se realizó el agrupamiento de los mismos, utilizando el método del agrupamiento jerárquico a través del encadenamiento promedio. Los conglomerados se realizaron en forma independiente en el tejido S (Figura 13 A) y en tejido DS-1 (Figura 13 B).



**Figura 13.** Conglomerados de cultivares de manzana según el contenido de putrescina, espermidina y espermina en piel sana (A) y con nivel de daño por sol 1 (B) en frutos al momento de madurez. Average Linkage-Distancia Euclídea.

La distribución de cada PA detectada en este estudio en piel S de manzana permite establecer tres grupos, el primero conformado por Red Delicious y Granny Smith, el segundo por Fuji, Gala y Cripp's Pink y en forma independiente se ubica Golden Delicious.

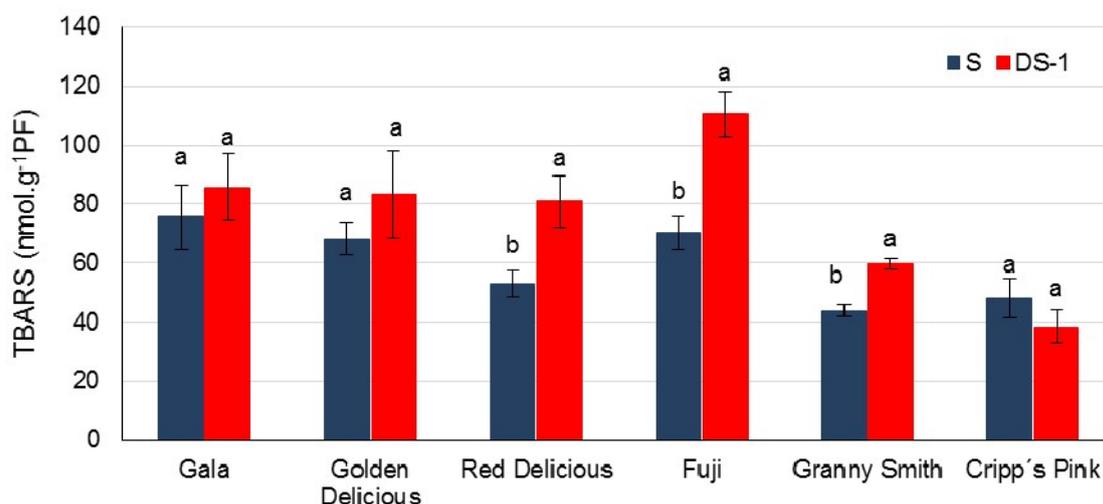
Al realizar el agrupamiento según los resultados en DS-1 se observa una modificación en la conformación de los grupos planteada según el tejido S. En este caso todos los cultivares de color rojo y/o bicoloreado conforman un grupo y Golden Delicious y Granny Smith se ubican ambos en forma independiente.

#### 6.1.4 Metabolismo oxidativo

##### *Peroxidación de lípidos*

El nivel de peroxidación de lípidos de membrana en la piel de manzana expuesta a alta radiación solar fue cuantificado a través de la concentración de TBARs. De acuerdo a lo que puede observarse en la Figura 14 en Gala, Golden Delicious y Cripp's Pink no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en este parámetro entre ambos

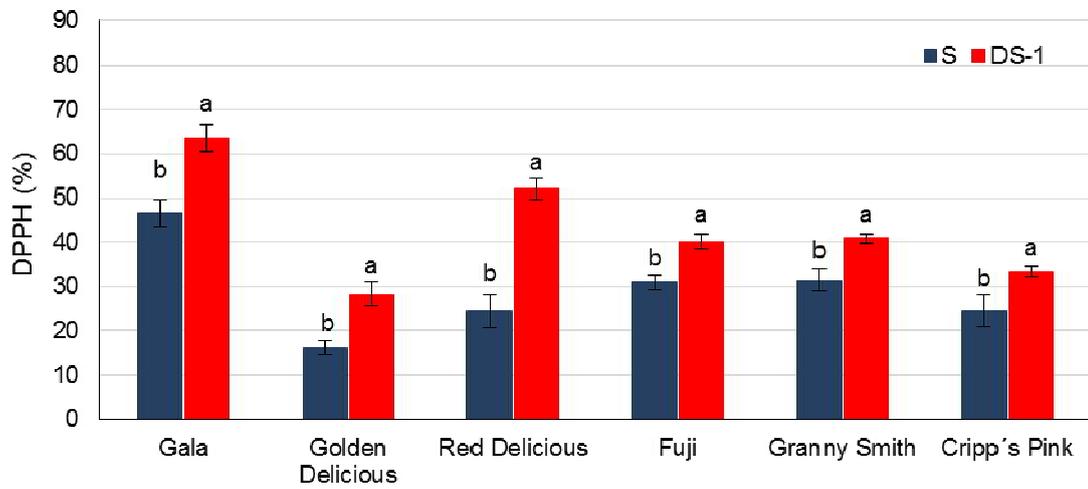
tejidos evaluados. Sin embargo en Red Delicious, Fuji y Granny Smith se determinaron incrementos estadísticamente significativos en DS-1 respecto a S del 52%, 57% y 36%, respectivamente.



**Figura 14.** Peroxidación de lípidos-TBARS en piel sana (S) y con nivel de daño por sol 1 (DS-1) en frutos de diferentes cultivares de manzana al momento de madurez. Los valores presentados corresponden a la media y las barras verticales al error estándar. Letras diferentes para cada cultivar indican diferencias significativas al 5%.

#### Capacidad antioxidante

El comportamiento de la capacidad antioxidante-DPPH en DS-1 respecto a S fue semejante en todos los cultivares estudiados, observándose de forma general un incremento significativo de la capacidad antioxidante en los tejidos expuestos a alta radiación solar (Figura 15). En los cultivares Fuji y Granny Smith se registró un 31% de capacidad antioxidante en el tejido S, que se incrementó a 40% en el tejido con DS-1. En Cripp's Pink se midieron 24,5% y 33,4% para S y DS-1, respectivamente. Gala fue el cultivar que mayor capacidad antioxidante mostró en S (46,7%) y en DS-1 (63,4%). Por el contrario, Golden Delicious presentó el valor más bajo en este parámetro en S 16,0%, el cual aumentó a 28,2% en DS-1. Red Delicious varió su capacidad antioxidante de 24,5% en S a 52,0% en DS-1, lo que implicó un incremento del 113%.



**Figura 15.** Capacidad antioxidante- DPPH en piel sana (S) y con nivel de daño por sol 1 (DS-1) en frutos de diferentes cultivares de manzana al momento de madurez. Los valores presentados corresponden a la media y las barras verticales al error estándar. Letras diferentes para cada cultivar indican diferencias significativas al 5%.

---

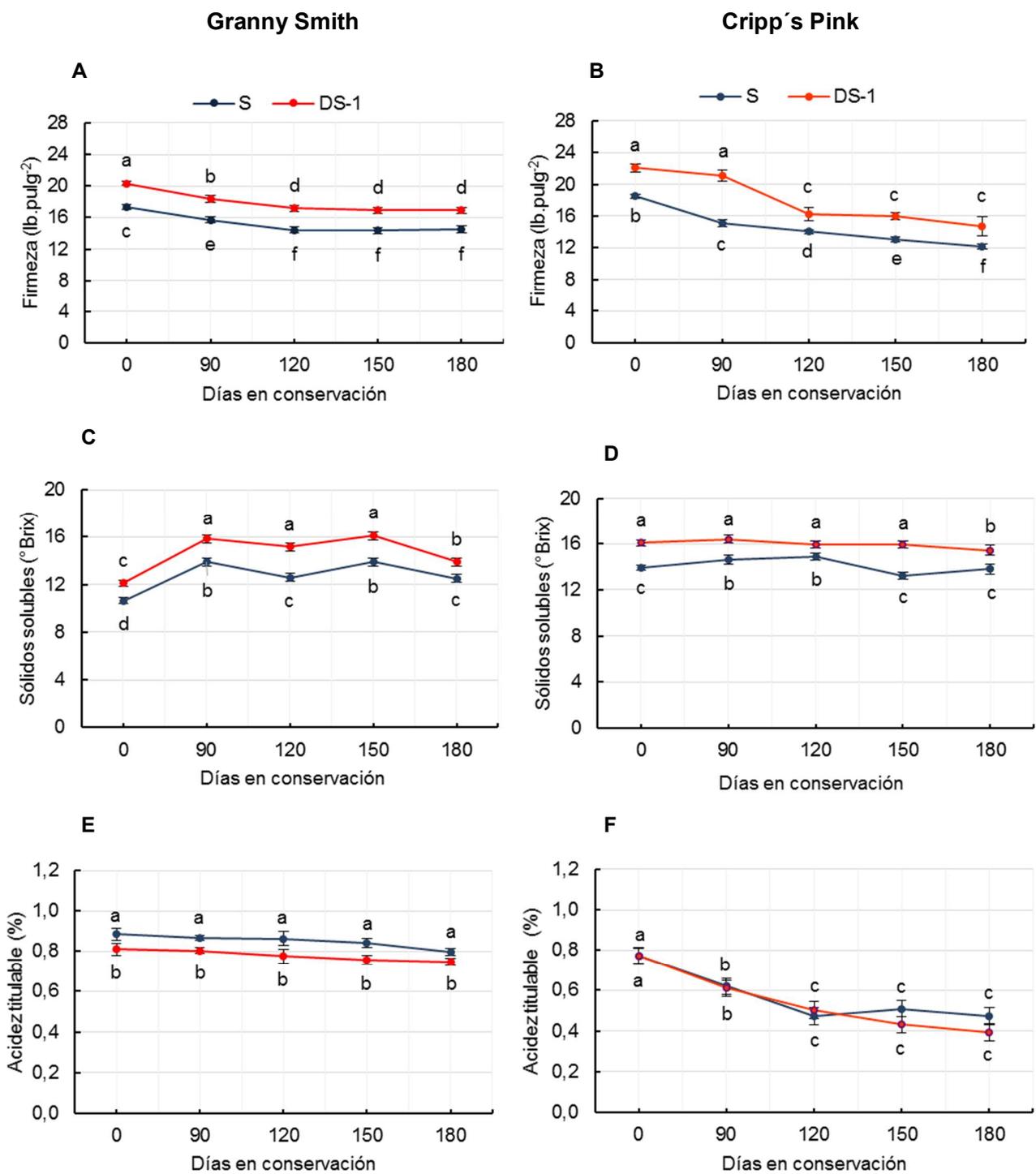
## **6.2 Evolución de la concentración de poliaminas y compuestos antioxidantes durante la conservación en frío en frutos de manzana con síntomas de estrés por alta radiación solar**

### **6.2.1 Caracterización físico-química de los tejidos**

El comportamiento de los índices de calidad durante la conservación en cámara frigorífica fue similar en Granny Smith y Cripp's Pink. En ambos cultivares, el sector del fruto con DS-1 mantuvo el mayor valor de firmeza respecto al sector S, registrado a madurez, durante todo el período de almacenaje. Luego de 180 días de conservación, en Granny Smith se determinó una disminución de la firmeza de pulpa del 16,4% y 17,0% para S y DS-1 respectivamente. Este descenso fue más significativo desde madurez hasta los 120 de conservación y luego se mantuvo estable en ambos sectores del fruto para el resto del período estudiado (Figura 16 A). Los frutos del cultivar Cripp's Pink redujeron su firmeza inicial de 18,5 lb.pulg<sup>-2</sup> a 12,1 lb.pulg<sup>-2</sup> en el sector S y de 22,0 lb.pulg<sup>-2</sup> a 14,7 lb.pulg<sup>-2</sup> en DS-1. Nuevamente se produjo un descenso importante de este parámetro durante los primeros 120 días de conservación. A partir de ese momento, la firmeza de pulpa del sector con DS-1 se mantuvo relativamente constante, mientras que el sector de fruto S continuó perdiendo firmeza en forma estadísticamente significativa (Figura 16 B).

En los dos cultivares el contenido de sólidos solubles fue mayor en DS-1 respecto a S a lo largo de los 180 de conservación. En Granny Smith se observó un incremento de este parámetro en ambos sectores del fruto durante los primeros 90 días de almacenaje que luego se mantuvo constante para descender nuevamente a partir de los 150 días (Figura 16 C). En Cripp's Pink, el sector del fruto con DS-1 disminuyó su concentración de sólidos solubles un 3,8% desde el día 0 al día 180 de conservación. Sin embargo en el sector S del fruto se observó un incremento durante los primeros 120 de conservación, y luego descendió alcanzando valores similares al día 0 (Figura 16 D).

En Granny Smith la acidez titulable en S fue significativamente superior a DS-1 durante todo el periodo de conservación, sin presentar diferencias desde el día 0 al 180 (Figura 16 E). Por el contrario en Cripp's Pink no se detectaron diferencias para este parámetro entre los niveles de daño por sol estudiados, pero se observó un descenso estadísticamente significativo en los primeros 120 días (Figura 16 F).



**Figura 16.** Evolución de firmeza de pupa, sólidos solubles y acidez titulable en el sector de fruto con tejido sano (S) y con nivel de daño por sol 1 (DS-1) en Granny Smith (A, C y E) y Cripp's Pink (B, D y F) durante la conservación en frío. Los valores presentados corresponden a la media y las barras verticales al error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas DGC ( $p < 0,05$ ).

---

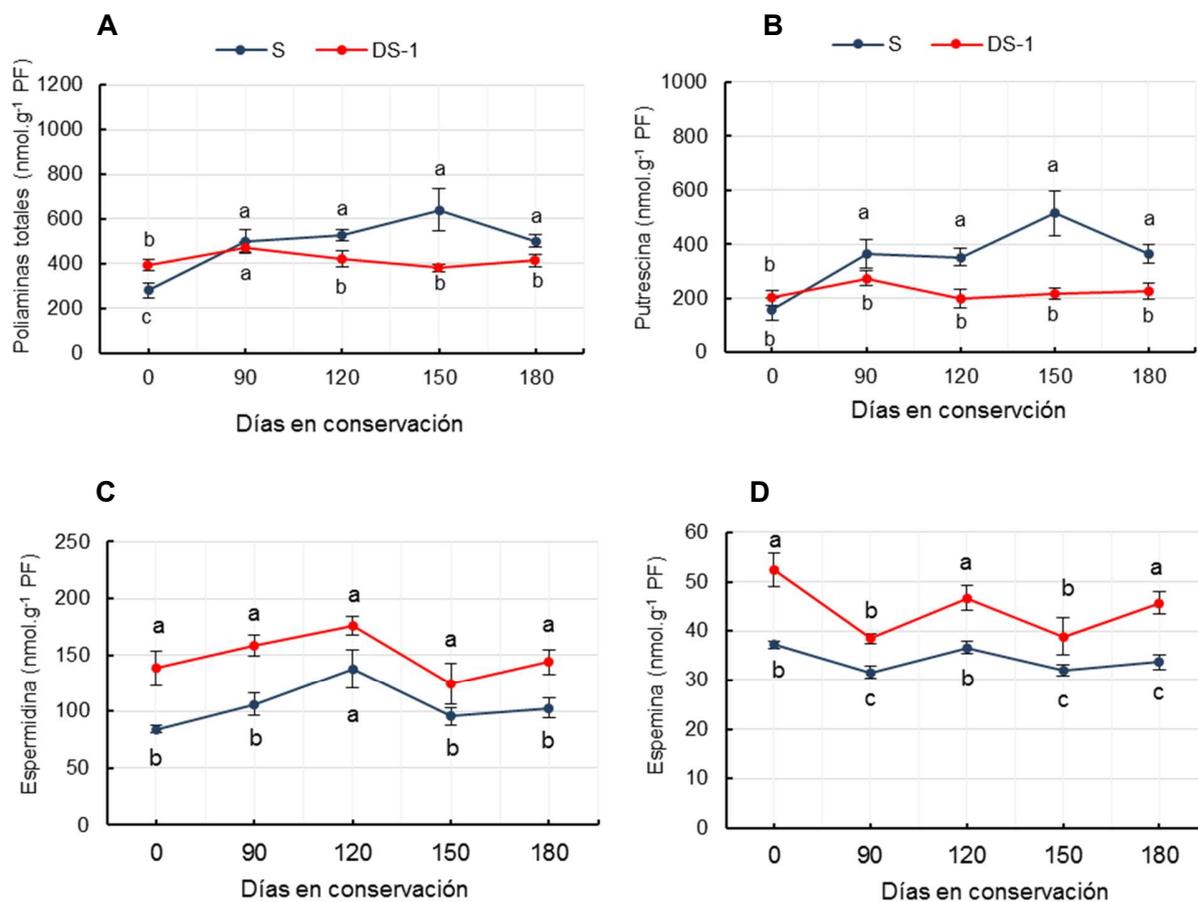
### **6.2.2 Contenido de poliaminas**

En la Figura 17 se puede observar la evolución de las PAs totales e individuales desde el día 0 hasta los 180 días de conservación en el cultivar Granny Smith. El contenido total de PAs libres presentó una interacción estadísticamente significativa entre los días en conservación y el nivel de daño. Al día 0 el tejido con DS-1 presentaba un contenido superior de PAs respecto al tejido S. A los 90 días se observó un incremento significativo en ambos tejidos. En S, este incremento permaneció sin diferencias estadísticas hasta los 180 días. Sin embargo en DS-1 disminuyó nuevamente a partir de los 120 días (Figura 17 A).

El contenido de Put permaneció sin variaciones en el tejido DS-1 durante todo el período de estudio con un valor promedio de 235,8 nmol.g<sup>-1</sup>PF (Figura 17 B). En S se observó un incremento estadísticamente significativo del 129% entre el día 0 y el día 90 de conservación. Este mayor contenido de Put alcanzando se mantiene sin diferencias estadísticas hasta el final de periodo de almacenaje.

En el caso de Spd se observó una mayor concentración en DS-1 respecto a S a lo largo de los 180 días conservación a excepción de la evaluación realizada a los 120 días (Figura 17 C). No se observó un efecto de los días de conservación sobre el contenido de Spd en ambos tejidos.

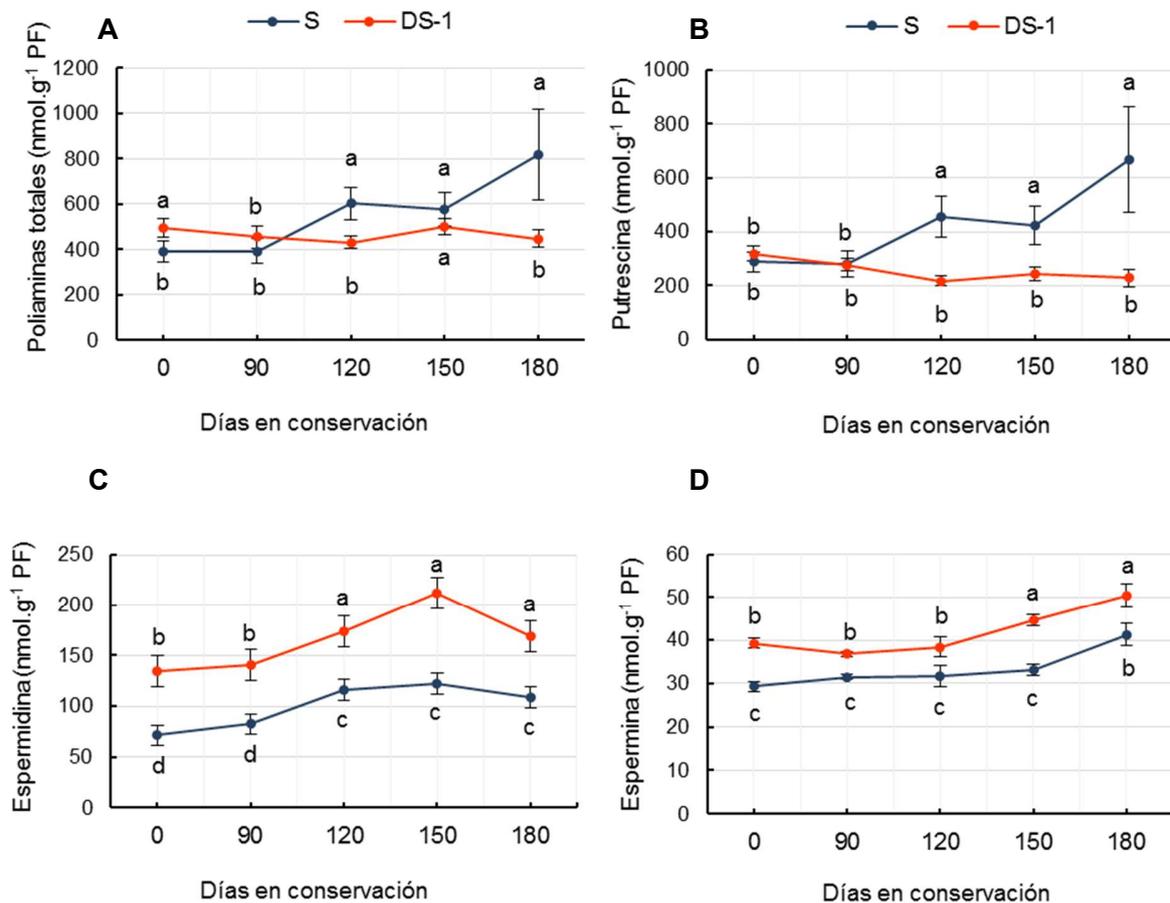
En el día 0 y hasta los 180 la piel con DS-1 presentó valores superiores de Spm estadísticamente significativos (Figura 17 D). En el tejido DS-1 se detectaron fluctuaciones en el contenido de Spm a lo largo de la conservación, pero no se observaron diferencias significativas entre el inicio y fin del periodo de almacenaje. En la piel S se produjo una disminución del nivel de Spm desde el día 0 al día 180 de conservación.



**Figura 17.** Contenido de Poliaminas totales (A), Putrescina (B), Espermidina (C), y Espermina (D) en piel sana (S) y con nivel de daño por sol 1 (DS-1) en Granny Smith durante la conservación en frío. Los valores presentados corresponden a la media y las barras verticales al error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas DGC ( $p < 0,05$ ).

El cultivar Cripp's Pink presentó un comportamiento similar al observado en Granny Smith. Mientras que la concentración total de PAs libres en el tejido S se incrementó a partir del día 120, en el tejido DS-1 disminuyó luego de 180 días de conservación (Figura 18 A).

Al igual que en Granny Smith el nivel de Put en la piel con DS-1 de Cripp's Pink se mantuvo constante durante los 180 días de almacenaje con un valor promedio de 257,2 nmol.g<sup>-1</sup>PF (Figura 18 B). En S se produjo un incremento del 131% entre el día 0 y el día 180.



**Figura 18.** Contenido de Poliaminas totales (A), Putrescina (B), Espermidina (C), y Espermina (D) en piel sana (S) y con nivel de daño por sol 1 (DS-1) en Cripp's Pink durante la conservación en frío. Los valores presentados corresponden a la media y las barras verticales al error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas DGC ( $p < 0,05$ ).

El contenido de Spd fue superior en forma significativa en DS-1 respecto a S a lo largo de todo el período de conservación (Figura 18 C). De igual modo se observó un incremento de esta PA a partir del día 120 en ambos tejidos estudiados.

En la Figura 18 D se observa que la concentración de Spm en tejido con DS-1 fue superior a S durante todo el almacenaje. A los 150 y 180 días para DS-1 y S respectivamente se observa un aumento estadísticamente significativo de Spm.

Ambos cultivares presentaron en S un incremento de PAs durante el periodo de conservación, debido fundamentalmente al incremento de Put. En cambio, en el tejido DS-1 no se observaron variaciones significativas en el contenido de PAs. Tanto Spd como

Spm del tejido DS-1 presentaron mayor nivel respecto a S desde el día 0, el cual se mantuvo (Granny Smith) e inclusive se incrementó (Cripp's Pink) durante la conservación.

En la Tabla 4 se observa la relación entre Spd y Spm respecto a Put. En ambos cultivares el tejido S presentó valores inferiores estadísticamente significativos respecto a DS-1. En Granny Smith la relación (Spd+Spm)/Put en el tejido DS-1 permaneció con valores relativamente constantes debido a que las tres PAs individuales no modificaron sustancialmente su concentración durante el almacenaje. Por el contrario en el tejido S se observa una disminución en la relación entre PAs ya que a partir de los 90 días se incrementó en forma significativa el nivel de Put sin modificaciones en los contenidos de Spd y Spm.

En Cripp's Pink se observan valores superiores de la relación (Spd+Spm)/Put en DS-1 hasta los 90 días debido al incremento de PAs superiores. A partir de los 120 días de conservación el tejido S incrementó el nivel de Put junto al nivel de Spd y Spm lo cual mantiene los valores de la relación similares a los observados hasta los 90 días. En cambio en el tejido con DS-1 se produjeron incrementos en Spd y Spm que no fueron acompañados con aumentos en el nivel de Put lo que provocó un aumento de la relación (Spd+Spm)/Put.

**Tabla 4.** Relación (Espermidina+ Espermina)/Putrescina en piel sana (S) y con nivel de daño por sol 1 (DS-1) en Granny Smith y Cripp's Pink durante la conservación en frío.

Días en conservación	(Espermidina+ Espermina)/Putrescina			
	Granny Smith		Cripp's Pink	
	S	DS-1	S	DS-1
<b>0</b>	0,82 ± 0,04 a	0,98 ± 0,08 b	0,37 ± 0,06 a	0,56 ± 0,06 b
<b>90</b>	0,44 ± 0,04 a	0,80 ± 0,08 b	0,44 ± 0,04 a	0,63 ± 0,04 b
<b>120</b>	0,42 ± 0,04 a	1,00 ± 0,08 b	0,39 ± 0,09 a	1,00 ± 0,09 c
<b>150</b>	0,31 ± 0,04 a	0,84 ± 0,08 b	0,42 ± 0,08 a	1,09 ± 0,08 c
<b>180</b>	0,40 ± 0,04 a	0,91 ± 0,08 b	0,33 ± 0,10 a	1,04 ± 0,10 c
<b>p-valor</b>				
<i>Días en conservación</i>	0,2928		0,0010	
<i>Nivel de daño</i>	0,0001		<0,0001	
<i>Días en conservación x Nivel de daño</i>	0,6042		0,0003	

Los valores presentados corresponden a la media ± el error estándar. Letras diferentes para cada cultivar indican diferencias significativas DGC (p<0,05).

---

### **6.2.3 Metabolismo oxidativo**

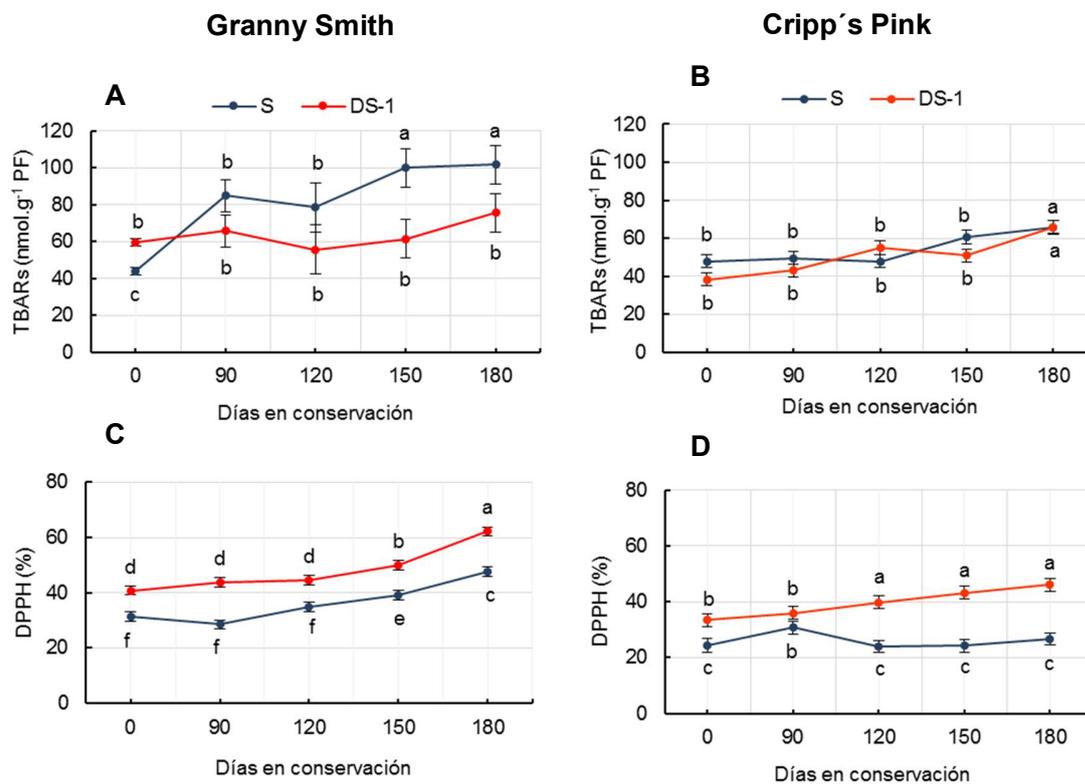
#### *Peroxidación de lípidos*

La peroxidación de lípidos en Granny Smith presentó interacciones significativas entre los días en conservación y el nivel de daño considerado (Figura 19 A). Al día 0 el tejido con DS-1 presentaba valores estadísticamente superiores a S. El tejido con DS-1 no varió su contenido de TBARs durante el almacenaje. Sin embargo en S se produjo un aumento estadísticamente significativo de los productos de la peroxidación lipídica desde el día 0 al 180 del 132%.

Para el cultivar Cripp's Pink la peroxidación lipídica no presentó diferencias entre S y DS-1 (Figura 19 B). Se observó un incremento de la peroxidación lipídica en ambos tejidos a lo largo de la conservación, alcanzando al día 180 un valor de 66 nmol.g<sup>-1</sup>PF para ambos niveles de daño estudiado.

#### *Capacidad antioxidante*

La capacidad antioxidante en Granny Smith fue estadísticamente superior en el tejido con DS-1 durante los 180 días de almacenaje (Figura 19 C). Al día 0 la diferencia entre DS-1 respecto a S fue de 9,4% y a los 180 días esta diferencia fue del 14,6%. Además se observó un incremento significativo en ambos tejidos a partir de los 150 días. En Cripp's Pink se produjeron incrementos en la cantidad de sustancias antioxidantes en el tejido con DS-1 a partir de los 120 días que se mantuvo hasta el final del estudio (Figura 19 D). La capacidad antioxidante en S se mantuvo relativamente constante a lo largo de los 180 días de conservación a excepción de un incremento detectado a los 90 días.



**Figura 19.** Peroxidación de lípidos-TBARs y capacidad antioxidante-DPPH en piel sana (S) y con nivel de daño por sol 1 (DS-1) en Granny Smith (A y C) y Cripp's Pink (B y D) durante la conservación en frío. Los valores presentados corresponden a la media y las barras verticales al error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas DGC ( $p < 0,05$ ).

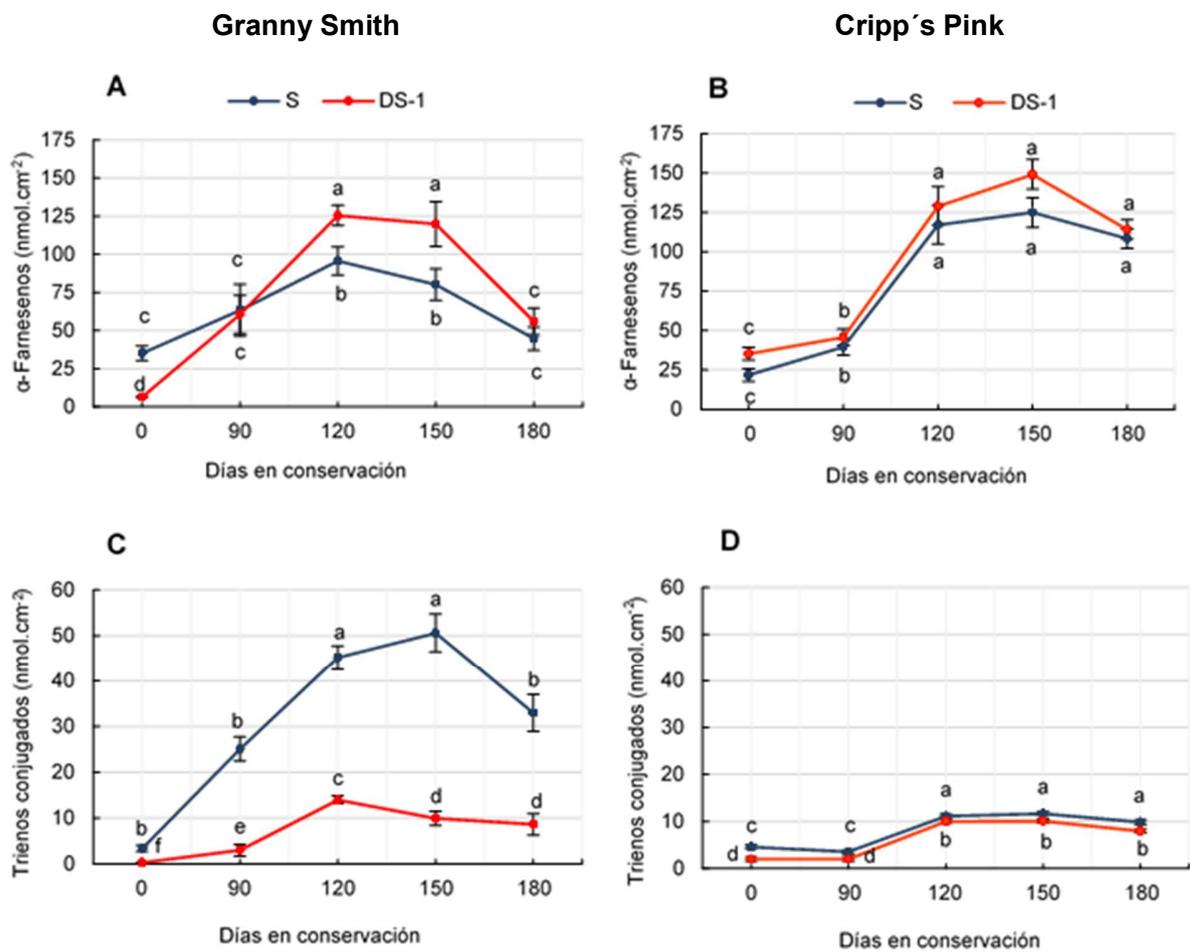
#### *Concentración de $\alpha$ -Farnesenos y trienos conjugados*

La concentración de AF se incrementó en ambos cultivares y tejidos, alcanzando los valores más altos entre los 120-150 días de conservación (Figura 20 A y B). En el caso de Granny Smith el tejido con DS-1 presentó valores inferiores de AF al día 0, sin embargo a los 120 y 150 días superó el nivel de S en forma estadísticamente significativa (Figura 20 A). En Cripp's Pink no se detectaron diferencias en la evolución de la concentración de AF entre ambos tejidos estudiados (Figura 20 B).

El comportamiento de los TC presentó diferencias importantes para ambos tejidos en Granny Smith, ya que en S se incrementó significativamente desde 3,3 nmol.cm<sup>-2</sup> el día 0 a 50,5 nmol.cm<sup>-2</sup> a los 150 días y luego descendió hacia el final del tiempo de conservación (Figura 20 C). En el tejido con DS-1 se observan incrementos menores de

TC que van desde 0,25 nmol.cm<sup>-2</sup> el día 0 a 13,9 nmol.cm<sup>-2</sup> luego de 120 días de almacenaje.

En Cripp's Pink no se encontraron diferencias en la evolución de los TC entre S y DS-1. Sin embargo se detectó un incremento de su contenido de 2,8 nmol.cm<sup>-2</sup> a los 90 días a 10,6 nmol.cm<sup>-2</sup> a los 120 días en promedio para ambos tejidos (Figura 20 D). También se observa que el nivel de TC fueron 20% menor en Cripp's Pink respecto al tejido sano de Granny Smith.



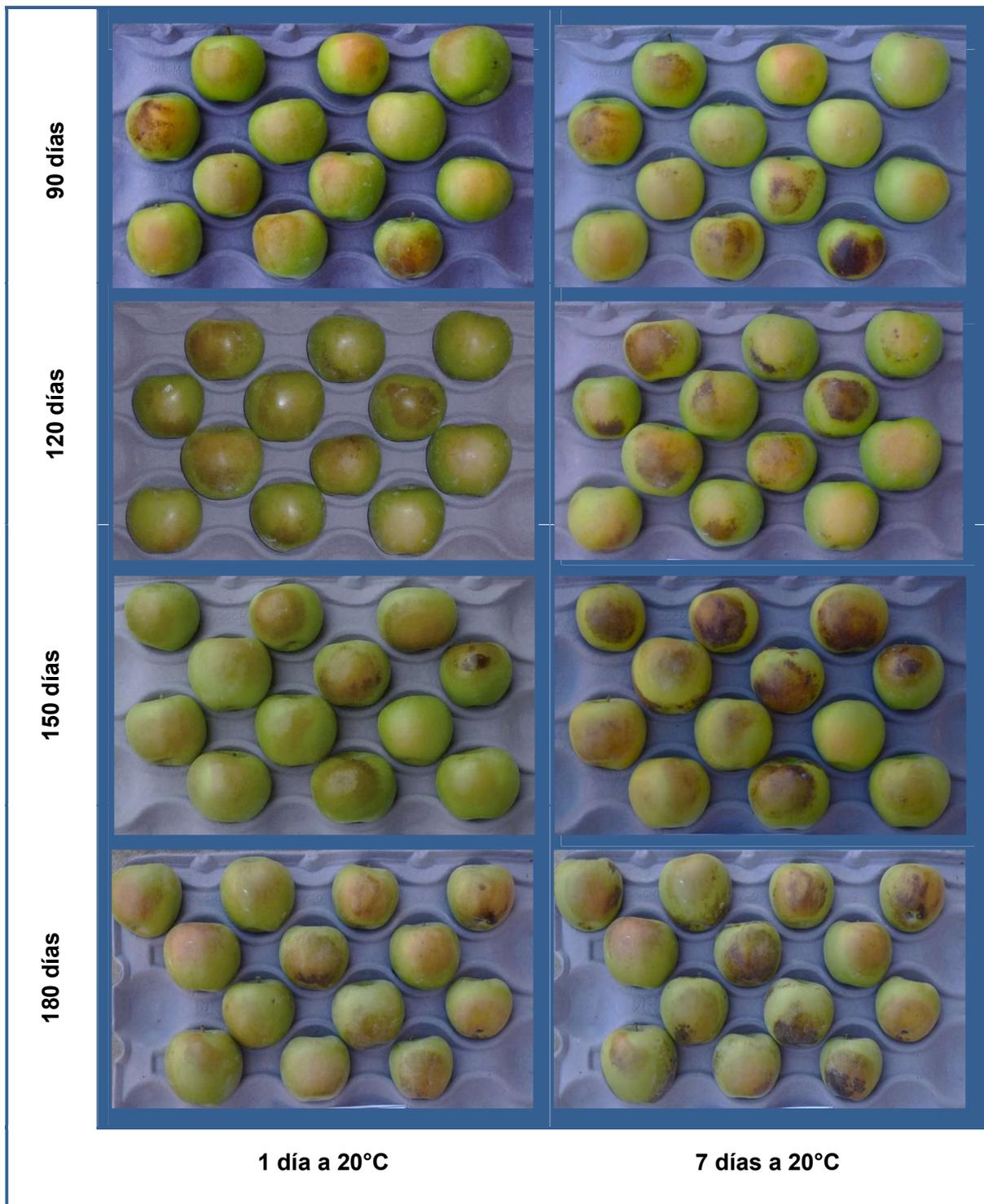
**Figura 20.** Evolución de la concentración de α-Farnesenos y trienos conjugados en piel sana (S) y con nivel de daño por sol 1 (DS-1) en Granny Smith (A y C) y Cripp's Pink (B y D) durante la conservación en frío. Los valores presentados corresponden a la media y las barras verticales al error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas DGC ( $p < 0,05$ ).

---

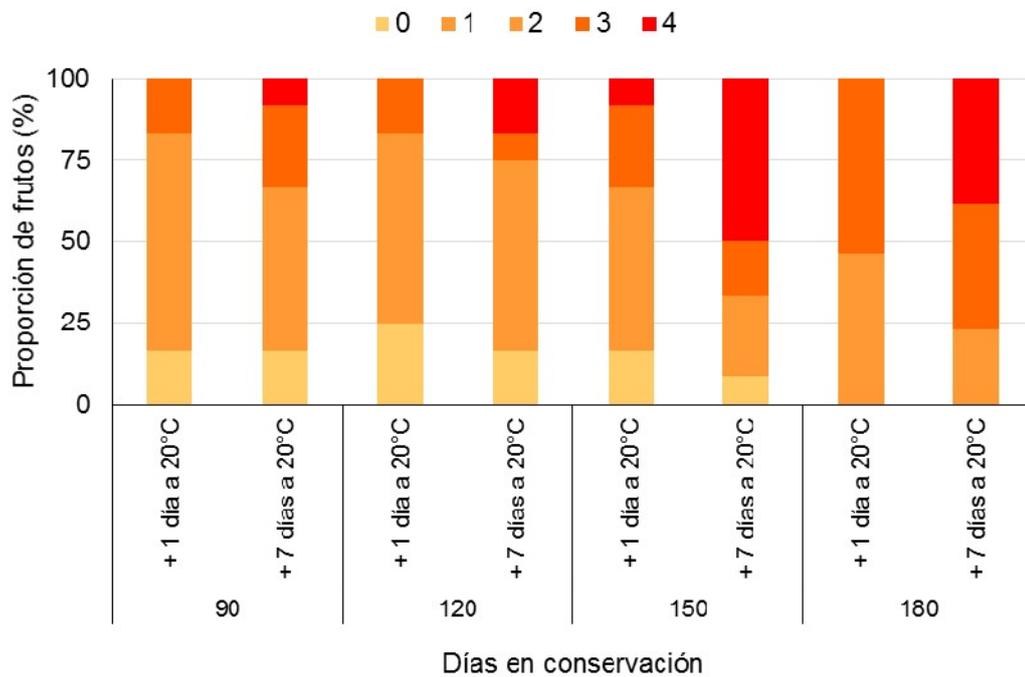
## **6.3 Desarrollo de fisiopatías de poscosecha**

### ***6.3.1 Escaldado por sol***

En la piel de frutos de manzana con daño por sol se observó la fisiopatía escaldado por sol. En la Foto 6 se observa para cada uno de los momentos de evaluación el sector del fruto de Granny Smith con DS-1 desde el día 1 de salida de cámara frigorífica y su evolución luego de 7 días a 20°C. En todas las evaluaciones se detectó el desarrollo de escaldado por sol en frutos, que se intensificó luego de los 7 días a temperatura ambiente. A los 90 días de conservación y luego de 1 día a 20°C el 16,7% de los frutos presentaba escaldado por sol de mayor intensidad (grado 3 y 4) el cual aumentó a 33,3% luego de 7 días (Figura 21). A los 120 días se observó un comportamiento similar, pero a los 150 días se produjo un incremento de los frutos con esta fisiopatía correspondiente al grado 3 y 4 pasando del 33,3% a 66,7% luego de 7 días a 20°C. En la evaluación realizada a los 180 días de almacenaje + 7 días a 20°C, todos los frutos presentaron desarrollo de escaldadura por sol con un 76,9% de frutos afectados severamente.

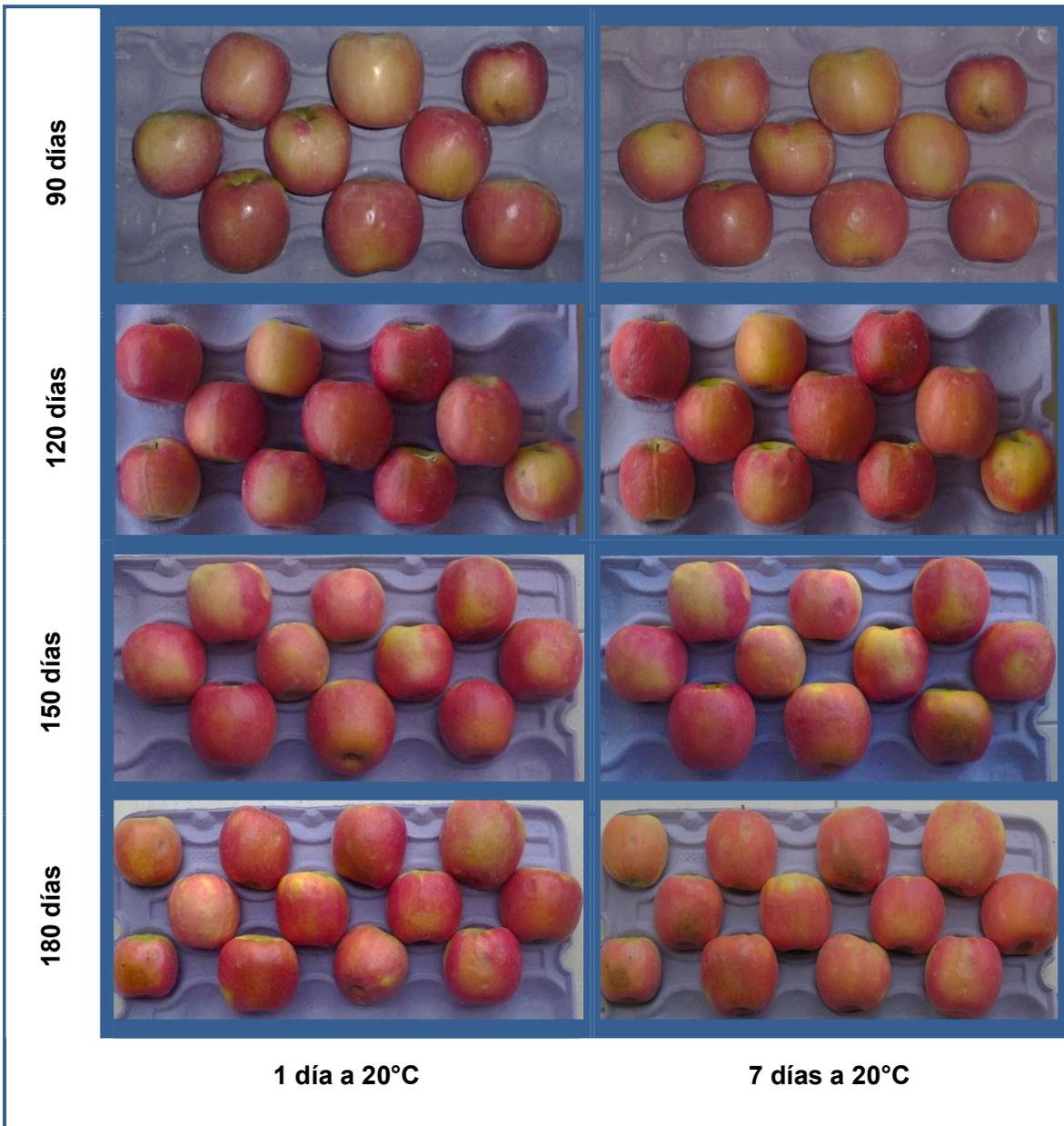


**Foto 6.** Evolución del escaldado por sol en la piel con nivel de daño por sol 1 (DS-1) en Granny Smith a 1 y 7 días a 20°C y luego de 90, 120, 150 y 180 días de conservación en frío.



**Figura 21.** Porcentaje de escaldado por sol en piel con daño por sol 1 (DS-1) de manzanas Granny Smith a 1 y 7 días a 20°C y luego de 90, 120, 150 y 180 días de conservación en frío. 0=sin escaldado de sol; 1-4: escaldado de sol de menor a mayor severidad.

En el cultivar Cripp's Pink no se observó desarrollo de escaldado por sol en el sector del fruto DS-1 a los 90 y 120 días de conservación (Foto 7). Luego de 150 días de almacenaje sólo el 10% de los frutos presentaron esta fisiopatía con una intensidad leve (grado 1) y luego de 180 días el 23% con grado 2.

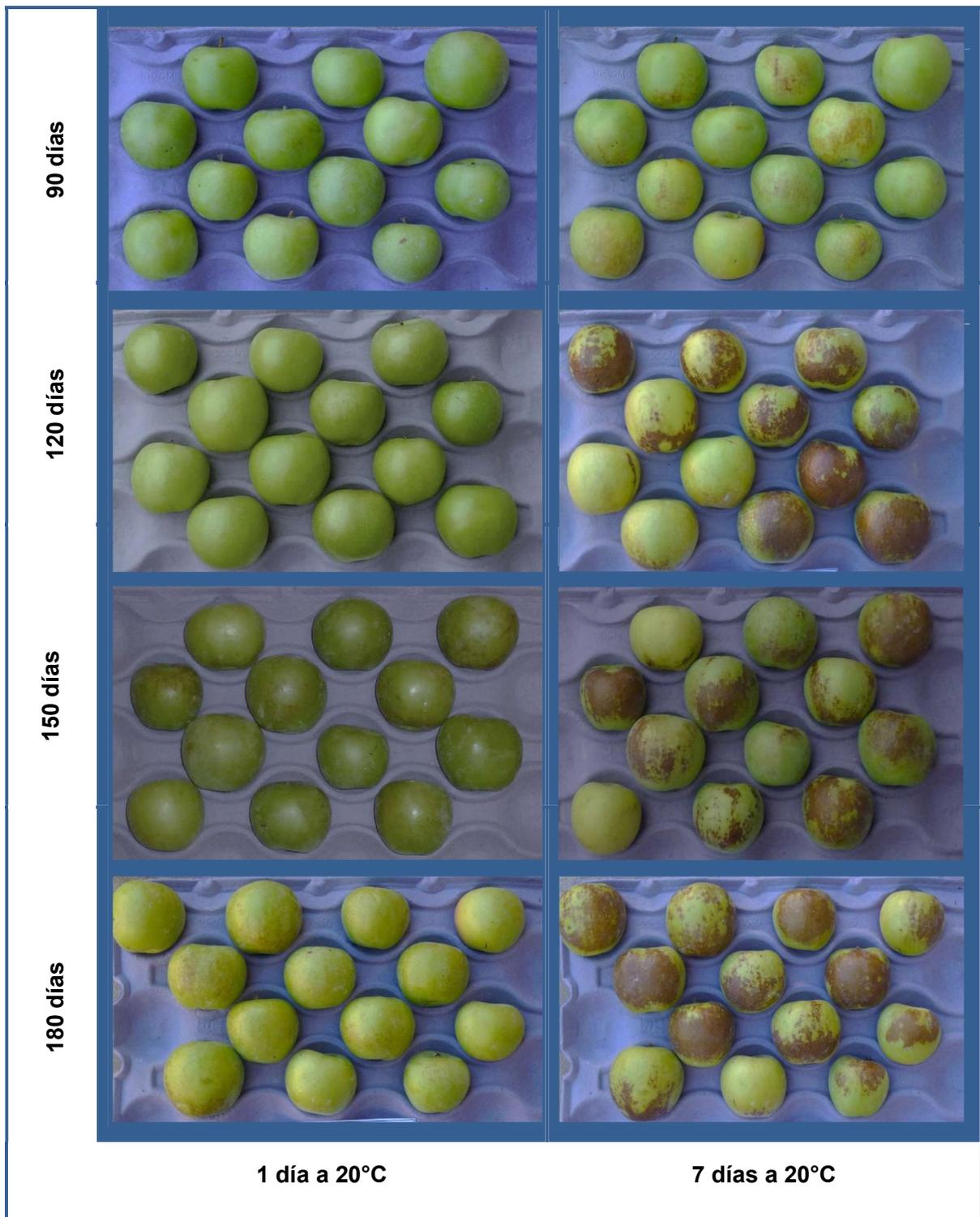


**Foto 8.** Evolución del escaldado por sol en la piel con nivel de daño por sol 1 (DS-1) en Cripp's Pink a 1 y 7 días a 20°C y luego de 90, 120, 150 y 180 días de conservación en frío.

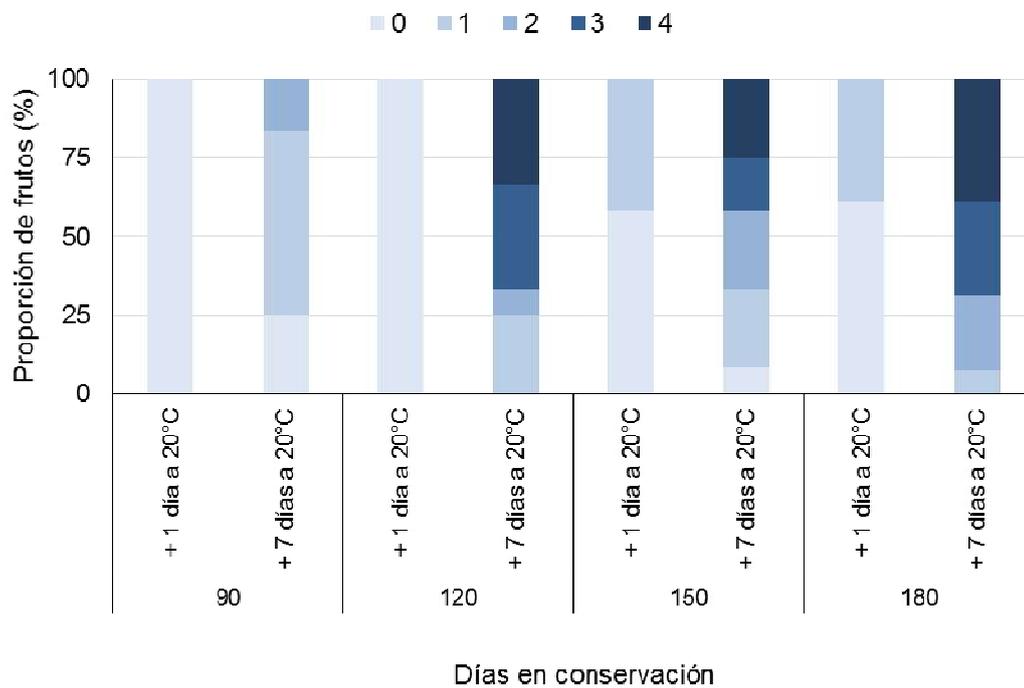
---

### **6.3.2 Escaldado superficial**

En la Foto 8 se observa el sector S de Granny Smith a los 90, 120 150 y 180 días de conservación luego de 1 y 7 días a 20°C. A los 90 y 120 días de conservación ningún fruto presentaba desarrollo de escaldado superficial luego de 1 día a 20°C sobre el sector S (Figura 22). Sin embargo a los 120 días y luego de 7 días a temperatura ambiente el 66,7% de los frutos se encontraba afectado con los grados 3 y 4. A partir de los 150 días de conservación y luego de 7 días a 20°C, el 50% de los frutos presentaba en el sector S desarrollo de escaldado superficial grado 1 y 2 y el 41,7% grado 3 y 4. A los 180 días de conservación el 69,2% de los frutos presentaron escaldado superficial severo en el sector S, luego de 7 días a 20°C.

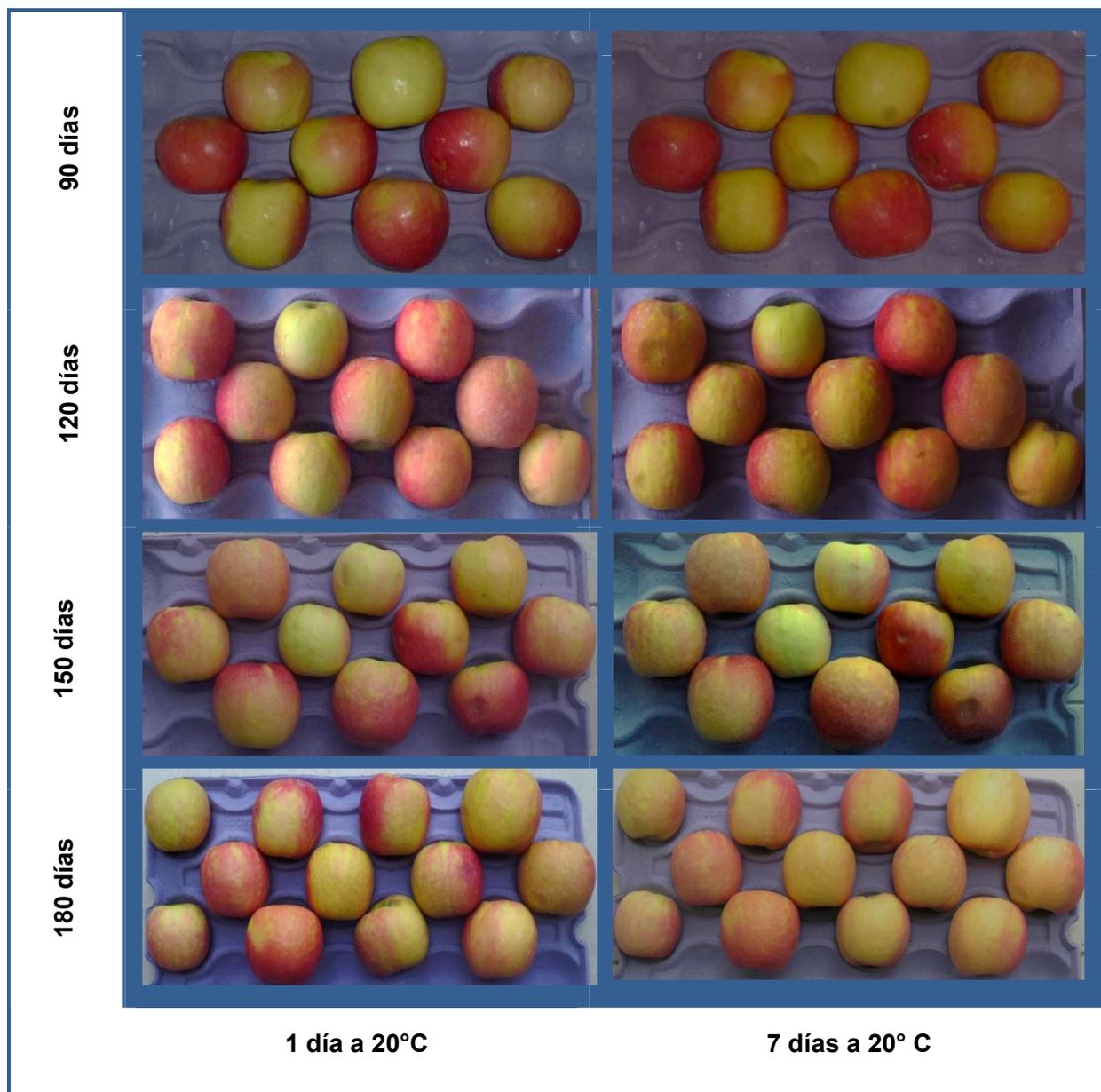


**Foto 8.** Evolución de la escaldadura superficial en piel sana (S) en Granny Smith a 1 y 7 días a 20°C y luego de 90, 120, 150 y 180 días de conservación en frío.



**Figura 22.** Porcentaje de escaldado superficial en piel sana (S) de manzanas Granny Smith a 1 y 7 días a 20°C y luego de 90, 120, 150 y 180 días de conservación en frío. 0=sano; 1:<25%; 2: 25-50%; 3: 50-75%; 4: >75% de superficie afectada.

En el cultivar Cripp's Pink no se observó desarrollo de escaldado superficial en el sector S en ninguno de los períodos estudiados (Foto 9).



**Foto 9.** Evolución de la piel sana (S) en Cripp's Pink a 1 y 7 días a 20°C y luego de 90, 120, 150 y 180 días de conservación en frío.

---

## 7. DISCUSIÓN

### 7.1 El daño por sol altera los índices de calidad en frutos de manzana

La calidad físico-química de los frutos es el resultado de su desarrollo fisiológico y se identifica con una combinación de propiedades como la firmeza, el color de la piel y el contenido de azúcares, entre otras. La calidad está influenciada por la ubicación de los frutos en el árbol y las condiciones ambientales como la luz y la temperatura. El nivel de exposición a la radiación solar a la que estuvieron sometidos los frutos durante su desarrollo, y la severidad del daño por sol que presentan, afectan su calidad durante la etapa de maduración (Woolf y Ferguson, 2000; Schrader et al., 2009).

En el presente estudio la firmeza de pulpa y los sólidos solubles fueron los índices que expresaron en forma más consistente el efecto de la elevada radiación solar sobre los tejidos de frutos de manzana. En todos los cultivares se observó un aumento estadísticamente significativo de la firmeza de pulpa en DS-1 respecto al S (Tabla 1). Estos incrementos fueron mayores en Gala, Granny Smith y Cripp's Pink y de menor magnitud en Golden Delicious, Red Delicious y Fuji.

Estos resultados concuerdan con estudios previos en manzana Fuji, Granny Smith, Gala, Jonagold y Golden Delicious, en donde el sector expuesto a radiación solar excesiva y con síntomas de daño presentó valores de firmeza más altos respecto al sector sano del fruto (Schrader et al., 2009; Tartachnyk et al., 2012). Woolf y Ferguson (2000) indican que este incremento puede deberse a una diferente composición de la pared celular y al engrosamiento de la misma o a la variación en el número de células.

La mayor firmeza presentada por el tejido asoleado en este estudio también podría deberse a la pérdida de agua que se produce en este sector según lo indicado por Racskó et al. (2005b). El menor contenido de agua en el tejido con daño por sol podría estar causado por el gradiente de temperaturas producido entre los sectores fríos y cálidos en el fruto (Racskó y Schrader, 2012; Torres et al., 2013). Esta diferencia causa un movimiento del agua a través de los espacios aéreos hacia los sectores más fríos (Curtis, 1937; Lessler, 1947). Existe además evidencia de que la luz solar y la temperatura causan cambios en las propiedades de la cutícula cerosa lo que podría inducir a una mayor permeabilidad del agua en los sectores expuestos de los frutos (Woolf y Ferguson, 2000).

---

Al igual que lo reportado por Racskó et al. (2005b) y Schrader et al. (2009), el contenido de sólidos solubles a cosecha en los seis cultivares evaluados en este estudio fue significativamente mayor en DS-1 respecto a S (Tabla 1). Según Torres et al. (2013) la acumulación de carbohidratos en los tejidos expuestos a la radiación solar podría ser consecuencia de un menor metabolismo de estas moléculas debido a la condición de estrés ambiental. El sorbitol también puede desempeñar un papel como antioxidante (Smirnoff y Cumbes, 1989) lo cual le permite a los frutos hacer frente afectados al estrés ambiental y oxidativo causado por alta temperatura y radiación (Torres et al., 2013).

Los frutos de manzana con daño por sol presentan mayor degradación de almidón respecto a frutos sanos (Schrader et al., 2009). En concordancia con estas observaciones, en el presente trabajo la degradación de almidón mostró incrementos significativos en DS-1 respecto al sector S en los cultivares Gala, Granny Smith y Cripp's Pink (Tabla 1).

Schrader et al. (2009) encontraron una menor acidez titulable en frutos de manzana con daño por sol leve, mientras que Klein et al. (2001) reportaron que la zona expuesta al sol de frutos de manzana Anna, Golden Delicious y Orleans no presentó variaciones en la acidez titulable respecto al sector de fruto no expuesto al momento de cosecha. En el presente estudio no se detectaron diferencias significativas en la acidez entre los sectores S y DS-1 en ninguno de los cultivares estudiados (Tabla 1).

Según estudios de Tartachnyk et al. (2012) los frutos de manzana Fuji, Granny Smith y Braeburn con asoleado presentaron mayor degradación de almidón acompañado con una mayor cantidad de sólidos solubles, lo que en conjunto resultó en un estado de madurez más avanzado y un proceso de senescencia acelerado respecto a los frutos sanos. Por lo tanto, el incremento en el contenido de sólidos solubles junto a la mayor degradación de almidón determinado en este trabajo, indicarían un estado de madurez del fruto más avanzado en el sector DS-1. Por otra parte, el mayor valor de firmeza de pulpa registrado en el tejido DS-1 respecto a S podría no estar relacionado a una condición de madurez, sino a modificaciones de la pared celular o del contenido hídrico del tejido con daño por sol.

La radiación solar excesiva provoca cambios significativos en la composición de los pigmentos de los frutos de manzana. En la mayoría de los casos se produce una degradación de la clorofila junto con el aumento de otros pigmentos implicados activamente en los mecanismos fotoprotectores de la fruta (Racskó, 2010). Los sectores del fruto con síntomas de daño por sol poseen un color amarillo intenso que se asocia con

---

la transformación de los pigmentos de los cloroplastos en el área afectada (Solovchenko et al., 2006).

En el presente estudio, el efecto de la radiación solar sobre el contenido de clorofila en piel fue variable según los cultivares estudiados y su color de superficie. En los cultivares Golden Delicious y Granny Smith se detectó una disminución significativa del contenido de clorofila total en el tejido con DS-1 en relación al tejido S (Tabla 2). Contrariamente a lo observado en los cultivares verdes y amarillos, la piel con DS-1 de Gala y Fuji presentó un mayor contenido de clorofila. En Red Delicious y Cripp's Pink no se observaron variaciones entre ambos tejidos evaluados.

Felicetti y Schrader (2008) realizaron evaluaciones del contenido de pigmentos en la piel de frutos que presentaban asoleado sobre manzanas Gala, Golden Delicious, Red Delicious, Fuji y Granny Smith. En todos los cultivares encontraron una disminución del contenido de clorofila en la zona con daño, respecto al tejido sano. Hernández et al. (2014), encontraron que manzanas Granny Smith con daño por sol desde leve a severo presentaron menor contenido de clorofila a y b en el momento de cosecha, lo que demuestra que ambos pigmentos se degradan bajo condiciones fotooxidativas a campo. Similares variaciones en los pigmentos de frutos asoleados han sido también reportados por Torres et al. (2006), Chen et al. (2008) y Tartachnyk et al. (2012).

Sin embargo, algunos estudios sobre el efecto del daño por sol sobre el contenido de clorofila en cultivares rojos presentan resultados contradictorios. Hengari et al. (2014) no encontraron diferencias en contenido de clorofila en piel de frutos de los cultivares Braeburn y Fuji, que habían desarrollado expuestos a la radiación solar y luego fueron tratados con radiación UV, respecto al control. En Cripp's Pink detectaron un incremento significativo de la concentración de clorofila luego de la exposición a radiación UV.

Nuestros resultados concuerdan con Kuckenbergl et al. (2008) los cuales encontraron respuestas diferentes en el contenido de clorofila en el sector expuesto a la radiación solar según se trate de cultivares de manzana rojos o verdes.

Merzlyak y Chivkunova (2000) y Merzlyak et al. (2002) estudiaron el efecto del estrés por alta radiación artificial y por radiación solar sobre la concentración de los pigmentos en cultivares de manzana de color amarillo-naranja y verdes. La exposición artificial de frutos de manzana a elevada radiación fotosintéticamente activa (PAR) provocó en el cultivar de color amarillo-naranja una menor tasa de degradación de clorofila respecto al cultivar de color verde. Por otra parte las variedades verdes expuestas al sol, aunque sin daño visible, presentaron un contenido de clorofila más bajo

---

y un mayor nivel de carotenoides respecto al sector no expuesto. Sin embargo en la variedad de color amarillo-naranja el contenido de clorofila, carotenoides, y antocianinas fue mayor en el sector expuesto a la radiación solar. Como resultados de sus estudios los autores indican que la elevada radiación solar produce diferentes efectos sobre el contenido de los pigmentos en frutos según la variedad considerada. Las antocianinas presentes en los frutos rojos o anaranjados pueden ser consideradas como un factor de protección a la fotodestrucción de la clorofila. La ubicación vacuolar de las antocianinas no permite que estén involucradas en reacciones con radicales libres por lo que se ha sugerido que la fotoprotección de las antocianinas de las células de la piel podría deberse a su acción como filtros que absorben una porción significativa de la radiación. El mayor contenido de clorofila en el sector expuesto a la radiación solar de los frutos rojos o anaranjados permite mantener el nivel de fotosíntesis suficiente, cuando una menor porción de radiación PAR alcanza los cloroplastos debido al efecto de pantalla o filtro de las antocianinas.

Por lo tanto, es probable que el mayor contenido de clorofila encontrado en este estudio en el sector DS-1 en los cultivares rojos o bicoloreados sea una respuesta al efecto fotoprotector de las antocianinas. La reducción de clorofila reportada en otras investigaciones en cultivares rojos podría deberse al mayor nivel de daño estudiado. En estos estudios los frutos seleccionados presentaron nivel de daño 2 (Felicetti y Schrader, 2008) o 3-4 (Tartachnyk et al., 2012) según la clasificación de Schrader et al. (2003), mientras que en el presente trabajo se analizaron frutos asoleados con nivel de daño 1. Es posible que a este nivel de daño en los cultivares de piel roja no se produzca aún degradación de clorofila debido al efecto protector de otros pigmentos como antocianinas y carotenoides, mientras que a niveles más avanzados, este efecto protector no sea suficiente.

En Granny Smith y Golden Delicious, donde se produjeron disminuciones significativas del contenido de clorofila total, no se detectaron diferencias significativas en la relación clorofila a/b (Tabla 2). Estos resultados no concuerdan con estudios previos donde Chen et al. (2008) en el cultivar Gala, encontraron que la relación clorofila a/b fue mayor en el tejido con daño por sol. Este incremento en la relación clorofila a/b fue causado por una mayor degradación de la clorofila b en los tejidos asoleados. La biosíntesis de la clorofila b ha mostrado regular a la antena colectora de luz, que juega un rol significativo en la aclimatación a largo plazo a las variaciones de intensidad lumínica (Sato et al., 2001). Diversos estudios indican un aumento de la relación clorofila a/b en

---

frutos de manzana con daño por sol, debido a una disminución del contenido de clorofila b y por lo tanto, del complejo colector de luz II (Chen et al., 2008; Felicetti y Schrader, 2008). Chen et al. (2008) sugieren que la disminución en el contenido total de clorofila y el incremento de la relación clorofila a/b, permitiría disminuir la absorción de luz en frutos de manzana asoleados, y por lo tanto, tener un desarrollo más lento de niveles severos de daño.

En este trabajo, en los cultivares rojos o bicoloreadas estudiados se produjeron aumentos en el contenido total de clorofila y no se observó una variación significativa en la relación entre el contenido de clorofila a y clorofila b, a excepción de Fuji. Es posible que el nivel de daño estudiado sea la causa de las diferencias encontradas en otras investigaciones donde, la mayor severidad de daño implicó una disminución del contenido total de clorofila y en particular de clorofila b.

## **7.2 El estrés por alta radiación solar produce un aumento de la concentración de poliaminas en la piel de manzana**

Desde los años 80 se ha podido identificar a la Put, la Spd y la Spm como las PAs presentes en diversos órganos de plantas de manzano (Bagni et al., 1984; Biasi et al., 1988). Coincidiendo con esos reportes, en el presente estudio las PAs libres detectadas en la piel de los seis cultivares evaluados fueron también Put, Spd y Spm. En todos los casos la Put fue la PA más abundante, seguida por Spd y finalmente Spm (Tabla 3). Sin embargo, las concentraciones registradas en nuestro trabajo fueron superiores a las reportadas en otras investigaciones (Conway et al., 1994; Pang et al., 2006; Deyman et al., 2014).

Este mayor contenido total de PAs encontrado en el presente estudio podría deberse a diferencias en el estadio del fruto analizado. Barrachina et al. (2000) indican que se ha observado que el tipo y las concentraciones de PAs varían durante el desarrollo y la maduración de los frutos. Asimismo las diversas metodologías de extracción de las PAs y las técnicas de separación y cuantificación utilizadas pueden ser otro factor a considerar respecto a las diferencias en el contenido absoluto de PAs libres detectadas. Por ejemplo, Bagni et al. (1984) y Biasi et al. (1988) utilizaron cromatografía en capa fina con una fase estacionaria de sílica gel.

---

Por otra parte, el tejido considerado para el estudio, sea pulpa (Conway et al., 1994; Pang et al., 2006), piel y pulpa (Biasi et al., 1988) o frutos completos (Deyman et al., 2014) presenta variaciones en el contenido de PAs. Según Kramer et al. (1991), el contenido de PAs registrado en pulpa es más bajo que el encontrado en piel. En el presente estudio todas las evaluaciones fueron realizadas exclusivamente sobre piel, lo cual podría ser otra de las fuentes de la mayor concentración de PAs detectada.

El estrés por alta radiación solar provocó variaciones en el contenido de PAs libres de la piel de frutos de manzana. En todos los cultivares estudiados se observó una tendencia a un mayor contenido de PAs en el tejido DS-1, aunque este aumento fue estadísticamente significativo únicamente en Red Delicious y Granny Smith (Tabla 3). Existen numerosas investigaciones que han demostrado que bajo diferentes condiciones de estrés abiótico se produce la acumulación de PAs en diversas especies (Alcázar et al., 2006, Groppa y Benavides, 2008; Hussain et al., 2011; Gupta et al., 2013). Kondo et al. (2011) en estudios realizados en plántulas de manzano expuestas a radiación UV-C observaron un incremento del contenido de PAs. En general los incrementos en el contenido de PAs implican una mejora de la tolerancia a las condiciones estresantes (Alcázar et al., 2010; Menéndez et al., 2013).

Básicamente el efecto protector de las PAs se ha relacionado con su estructura química. La naturaleza policatiónica de las PAs es una de las características sobresalientes de estas moléculas, ya que permite su interacción con varios otros componentes celulares. Pueden unirse en forma no covalente a la carga negativa de los fosfolípidos de membrana y proteínas, contribuyendo así a la estabilización de la membrana (Bouchereau et al., 1999). En los cloroplastos, las PAs protegen a la membrana tilacoidal contra los efectos nocivos de condiciones estresantes y permiten mantener la función fotosintética (Calzadilla et al., 2014). La unión de las PAs a proteínas o ácidos nucleicos no sólo podrían actuar como protección sino generar una molécula con una conformación más estable en condiciones de estrés (Marco et al., 2012).

Las PAs también pueden actuar como antioxidantes bajo condiciones de estrés activando el sistema enzimático (Kubiś, 2008) y no enzimático (Farooq et al., 2010). El efecto antioxidante de las PAs se debe a una combinación entre su capacidad de unirse a aniones, la propiedad de secuestrar radicales libres, la posibilidad de inhibir la peroxidación lipídica y las reacciones catalizadas por metales (Groppa y Benavidez, 2008).

---

Por otro parte, la modificación de los niveles internos de PAs altera la expresión de un importante número de genes, la mayoría de ellos relacionados al estrés. Algunos de estos genes pueden promover la síntesis de compuestos protectores y aumentar la tolerancia al estrés (Marco et al., 2012).

Diversas investigaciones relacionan el incremento de PAs con una mayor firmeza de los tejidos vegetales. Según Cona et al. (2006) bajo condiciones de estrés no sólo la biosíntesis de PAs esta alterada, sino que se producen también cambios en su catabolismo. Como resultado de la degradación de PAs a través de la DAO y la PAO se produce  $H_2O_2$ , el cual está implicado en la maduración de la pared celular y la lignificación durante el desarrollo, así como en la cicatrización de heridas y el refuerzo de pared celular durante la invasión de patógenos (Cona et al., 2006; Angelini et al., 2010).

En este sentido las variaciones en el contenido de PAs encontradas en este estudio en el tejido con DS-1 podrían implicar una mayor actividad del metabolismo en general de las PAs y, por lo tanto, una mayor actividad también de sus enzimas de degradación con la consecuente formación de  $H_2O_2$ . Es posible que el mayor nivel de firmeza encontrado en el tejido con DS-1 pueda deberse, en parte, a la mayor lignificación de la pared celular en este sector del fruto debido al efecto del  $H_2O_2$ .

Barrachina et al. (2000) indican que uno de los principales efectos de la infiltración postrecolección de PAs en frutos y vegetales es el aumento de la firmeza. El mecanismo por el cual las PAs aumentan la firmeza parece estar relacionado con cambios en los ácidos poligalacturónicos, y por lo tanto las pectinas, especialmente por medio de la formación de enlaces electrostáticos entre los grupos carboxílicos y las PAs (Leiting y Wicker, 1997).

Las diversas respuestas encontradas en nuestro estudio en relación al contenido de clorofila (Tabla 2) en el tejido DS-1 podrían también estar afectadas por el incremento de PAs producido en este sector del fruto. Las PAs, en especial aquellas asociadas a los tilacoides juegan un rol decisivo en la protección del aparato fotosintético (Unal et al., 2008). Lütz et al. (2005) encontraron modificaciones en las PAs del tilacoide en cultivares de tabaco bajo tratamientos con UV-B. En investigaciones realizadas por Unal et al. (2008) en líquenes sometidos a radiación UV-A, los tratamientos externos con PAs disminuyeron la degradación de clorofila. Los autores sugieren que las PAs podrían proteger al fotosistema II de la radiación UV-A.

---

### **7.3 La modificación del contenido de poliaminas a causa del estrés por alta radiación solar condiciona el agrupamiento de los cultivares de manzana**

A través de diversas investigaciones se ha podido identificar algunas funciones específicas de las distintas PAs frente a condiciones ambientales estresantes. La Spd puede actuar como un compuesto protector directo y como regulador de los mecanismos de señalización (Kasukabe et al., 2004) y la Spm ha mostrado tener una función directa como secuestrador de radicales libres (Ha et al., 1998; Fariduddin et al., 2013). Los mecanismos protectores de la Put incluyen el incremento de la capacidad antioxidante, y una mayor habilidad para secuestrar  $O_2^{\bullet}$  y como quelante de metales (Yiu et al., 2009).

Todos los cultivares evaluados presentaron incrementos del contenido de Spd en el tejido DS-1 respecto a S, aunque estas diferencias fueron estadísticamente significativas sólo en Red Delicious, Fuji, Granny Smith y Cripp's Pink (Tabla 3). Investigaciones en diversos tipos de estrés determinaron un incremento de Spd endógena como respuesta y mecanismo de tolerancia en las plantas. Bouchereau et al. (1999) encontraron que las plantas tolerantes al estrés térmico cambian su contenido de PAs a través del aumento de sus reservas totales de Spd y Spm. En tejidos de durazno sometidos a radiación UV-C se registró un incremento de PAs en especial de Spd (Gonzalez-Aguilar et al., 2004).

Las aplicaciones exógenas de Spd también permiten aliviar diferentes situaciones de estrés en las plantas. Kubiś (2005) indica que la aplicación externa de Spd causa una sustancial reducción del contenido de EROs y por lo tanto un menor estrés oxidativo en hojas de cebada bajo déficit hídrico. En semillas de arroz sometidas a estrés salino, se revirtió el daño a la membrana plasmática y se incrementó actividad de la H<sup>+</sup>ATPasa a través de aplicaciones de Spd (Roy et al., 2005).

Al igual que lo indicado en el caso de Spd, todos los cultivares de manzana estudiados presentaron incrementos de Spm en DS-1 respecto a S. Estos aumentos fueron significativos en Fuji, Granny Smith y Cripp's Pink (Tabla 3).

La mayor parte de la información disponible acerca de la función protectora de las PAs frente al estrés oxidativo ha estado enfocada en la Spm (Groppa et al., 2001; Fariduddin et al., 2013). La Spm también tiene un rol importante en la tolerancia al estrés salino en plantas de arroz según lo reportado por Maiale et al. (2004). Estudios en flores

---

de *Arabidopsis thaliana* realizados por Tassoni et al. (2000) también sugieren que las PAs, principalmente la Spm, se incrementan con el estrés salino y este aumento contribuye a la mayor tolerancia de las plantas frente a estas condiciones.

Los resultados obtenidos respecto al contenido de Put en DS-1 respecto a S presentaron una alta variabilidad según el cultivar considerado. Red Delicious fue el único cultivar que incrementó en forma estadísticamente significativa el contenido de Put (Tabla 3). En cultivares como Granny Smith, Golden Delicious y Cripp's Pink se observó una tendencia hacia un mayor contenido de Put y en Gala y Fuji no se registraron diferencias significativas.

Algunos reportes indican que diversas situaciones estresantes para las plantas pueden generar un incremento en el contenido de Put. En *Populus przewalskii* el estrés hídrico incrementó los niveles de Put y Spd, mientras que pequeñas variaciones se observaron en el nivel de Spm (Lei, 2008). Según Lütz et al. (2005) un incremento en PAs ligadas a las membranas tilacoidales, en especial Put, se observó en variedades de tabaco resistentes cuando fueron sometidas a radicación UV-B respecto a aquellos cultivares sensibles.

La aplicación exógena de Put en *Allium fistulosum* ha demostrado disminuir el daño oxidativo causado por inundación a través del incremento de su capacidad antioxidante. Esto resultó en una sustancial reducción del  $O_2^*$ ,  $H_2O_2$  y TBARs (Yiu et al., 2009).

En arroz bajo condiciones de estrés hídrico el contenido de Put varió en gran medida entre los cultivares y según la duración o la severidad del estrés (Yang et al., 2007; Fariduddin et al., 2013). Según Maiale et al. (2004) la Put es utilizada para la biosíntesis de PAs superiores durante la exposición de arroz a condiciones de alta salinidad. Zapata et al. (2004) cuantificaron los niveles de PAs en diferentes cultivos sometidos a estrés salino durante su germinación y observaron un aumento significativo en Spd y Spm y una menor concentración de Put. Los autores postulan que la provisión de Put podría haber servido como fuente para la síntesis de Spd y Spm.

En nuestro estudio, el tipo de PA individual modificada a causa del estrés por alta radiación presentó diferencias según el cultivar considerado (Figura 12). Mientras que en Gala (Figura 12 A) y Golden Delicious (Figura 12 B) se observa una escasa variación de los contenidos de las tres PAs en DS-1 respecto a S, Red Delicious (Figura 12 C) incrementó en forma significativa su contenido de Put, y en menor proporción Spd y Spm. En cambio, en Fuji (Figura 12 D), Granny Smith (Figura 12 E) y Cripp's Pink (Figura 12 F) se registraron los mayores aumentos en las PAs superiores como Spd y Spm en DS-1 en

---

comparación con S. A partir de lo sugerido por Maiale et al. (2004) y Zapata et al. (2004) es posible que una mayor duración de las condiciones estresantes permita que la Put pueda ser utilizada en la biosíntesis de PAs superiores. Liu et al. (2007) sostienen que cultivares de una misma especie pueden diferir en la sensibilidad frente a una condición de estrés y además mostrar patrones diversos de variación de las PAs bajo esas condiciones.

La relación entre las PAs individuales se ve modificada por las condiciones de estrés sobre los tejidos vegetales tal lo indicado por Zapata et al. (2004) a través de la observación del aumento en la relación (Spd+Spm)/Put en diversas especies sometidas a estrés salino. Wen et al. (2008) en un estudio de brotes de pera *in vitro* modificados para la sobreexpresión de la SPDS encontraron que el incremento de la relación (Spd+Spm)/Put es un factor de tolerancia crítico frente a las condiciones de estrés.

En nuestro trabajo, a excepción de Red Delicious, todos los cultivares estudiados presentaron una tendencia a un incremento de la relación (Spd+Spm)/Put (Tabla 3). Nuestros resultados sugirieron que la información brindada por esta relación podría ser de interés para caracterizar la respuesta de la piel de los diferentes cultivares a condiciones de estrés por elevada radiación solar.

Existe escasa información sobre el contenido relativo de cada una de las PAs detectadas en diferentes cultivares de manzana. En este trabajo la conformación de los conglomerados según la proporción de Put, Spd y Spm en los diferentes tejidos estudiados permitió establecer tres grupos. A partir del análisis del tejido S (Figura 13 A) se conformó un primer grupo con Fuji, Gala y Cripp's Pink, el cual presentó una alta proporción de Put (75%). Otro grupo fue formado por Red Delicious y Granny Smith con un menor contenido relativo de Put del 60% y mayor proporción de Spd (28%), mientras que el cultivar Golden Delicious se ubicó en forma independiente con valores intermedios.

El efecto del estrés por elevada radiación solar modificó el agrupamiento de cultivares antes planteado (Figura 13 B). Todos los cultivares de color rojo y/o bicoloreado conformaron un grupo y Golden Delicious y Granny Smith se ubicaron ambos en forma independiente. Granny Smith se diferenció de los otros cultivares debido a una alta proporción de Spd (35%) y un bajo contenido relativo de Put (51%). El conglomerado de las variedades rojas o bicoloreadas presentó una mayor proporción de Put (66%) y Golden Delicious mostró valores intermedios al igual que lo indicado en el tejido S.

A partir de estos resultados se puede observar que Golden Delicious es un cultivar que, en el estado de madurez y bajo condiciones de estrés por elevada radiación solar,

---

modifica escasamente la proporción entre las diferentes PAs. Por otra parte, la piel de los cultivares rojos que presentan daño por sol como Gala, Fuji y Cripp's Pink incrementaron en mayor proporción el contenido de Spd y Spm y en menor medida Put. Por último, Granny Smith es el cultivar que aumentó más significativamente su contenido de Spd como respuesta a las condiciones de estrés por elevada radiación solar.

#### **7.4 La capacidad antioxidante en la piel de frutos manzana se incrementa bajo condiciones de estrés por elevada radiación solar**

El sistema de defensa antioxidante no enzimático incluye al ascorbato y al glutatión, los tocoferoles, los carotenoides, los compuestos fenólicos (Mittler, 2004; Scandalios, 2005) y las PAs (Kubiś, 2008). La actividad antioxidante de los compuestos no enzimáticos puede ser expresada en términos de la habilidad de secuestrar radicales libres a través de una reacción con un radical como es el DPPH (Rufino et al., 2011). En el presente estudio la actividad antioxidante a través de la técnica de DPPH presentó variaciones en el tejido S entre los diferentes cultivares estudiados (Figura 15). En estudios realizados por Kondo et al. (2002), la actividad antioxidante-DPPH varió según en diferentes cultivares de manzanas y la parte del fruto analizada. Los extractos de piel presentaron mayor contenido de antioxidantes respecto a la pulpa durante todo el desarrollo del fruto.

La elevada radiación solar en DS-1 incrementó en forma significativa la capacidad antioxidante en todos los cultivares. Los mayores incrementos se registraron en Red Delicious y en Golden Delicious. Estos resultados concuerdan con investigaciones realizadas en Chile sobre manzanas Granny Smith, Braeburn y Fuji donde determinaron un aumento en los niveles de antioxidantes-DPPH en los frutos con daño por sol leve. (Yuri et al., 2010; Yuri et al., 2014).

En el presente trabajo, el aumento de la capacidad antioxidante en el tejido DS-1 para todos los cultivares podría estar asociado, en parte, al mayor nivel de PAs, junto al incremento de otros metabolitos antioxidantes no evaluados en este estudio. He et al. (2008) reportaron cambios en la capacidad antioxidante enzimática y no enzimática en transgénicos de *Pyrus communis* que sobreexpresan la SPDS en respuesta a estrés salino. Estas líneas transgénicas presentaron mayor actividad antioxidante, menor

---

concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y TBARs. Según Kondo et al. (2011) las PAs pueden funcionar como secuestradores de radicales libres y antioxidantes. En hojas de plantas de tomate tipo salvaje bajo estrés por alta temperatura se observó un aumento de la peroxidación de lípidos pero en líneas transgénicas la sobreexpresión de SAMDC aumentó los niveles de Spd y Spm y a su vez disminuyó la peroxidación de lípidos (Cheng et al., 2009). Según Unal et al. (2008), las PAs pueden inhibir la peroxidación de lípidos en las membranas celulares lo cual incrementa su tolerancia al estrés.

## **7.5 El mayor contenido de poliaminas en la piel de frutos de manzana sometidos a elevada radiación solar no evita el estrés oxidativo y la manifestación del daño por sol**

El exceso de temperatura y radiación UV-B genera el daño por sol en frutos debido al estrés oxidativo causado por la producción de EROs (Chen et al., 2008).

En los cultivares Red Delicious, Fuji y Granny Smith se determinó un incremento estadísticamente significativo de la concentración de TBARs en el tejido DS-1 en comparación con S (Figura 14). En Gala y Golden Delicious se observó una tendencia hacia una mayor peroxidación lipídica en el sector DS-1 aunque sin significancia estadística. Estos resultados concuerdan con evaluaciones realizadas en manzana Gala por Chen et al. (2008) donde encontraron un incremento de la peroxidación lipídica en el sector del fruto con daño por sol. Según los autores, el hecho de que la piel con daño por sol presente mayor peroxidación lipídica indica que el sistema antioxidante fue incapaz de hacer frente al proceso fotooxidativo producido por la elevada temperatura junto a la elevada radiación solar.

En el cultivar Cripp's Pink no se produjeron diferencias en la peroxidación lipídica en DS-1 respecto a S. Esto podría deberse a una baja producción de EROs o una mayor actividad del sistema antioxidante (Hodges, 2004). Schrader et al., (2001) encontraron que la pérdida de electrolitos no difería significativamente entre tejido sano y el tejido con daño por sol con pardeamiento lo cual indica que la integridad de la membrana no había sido afectada.

Nuestros resultados sugieren que el incremento de la capacidad antioxidante total, y del contenido de PAs en particular en DS-1, no fue suficiente para evitar los síntomas de

---

daño por sol leve y el aumento de la peroxidación lipídica en este tejido. Esto es evidente en cultivares como Red Delicious y Granny Smith donde se registraron incrementos estadísticamente significativos en el contenido de PAs totales, la capacidad antioxidante y el contenido de TBARs. Sin embargo, el mayor contenido de PAs podría estar participando en la respuesta antioxidante protegiendo a los frutos durante las condiciones de estrés oxidativo y evitando la mayor severidad de los síntomas de asoleado.

## **7.6 El estrés por elevada radiación solar durante el desarrollo de frutos de manzana condiciona la evolución de los índices de calidad en la conservación en frío**

La exposición de los frutos de manzana a excesiva radiación solar y temperatura a campo, tienen un impacto considerable en su calidad y comportamiento en poscosecha (Woolf y Ferguson, 2000; Rudell et al., 2008). Algunas de las propiedades que pueden ser afectadas incluyen la tasa de maduración, la coloración de la piel, el contenido de materia seca, los sólidos solubles, la acidez, la concentración de minerales y la firmeza de pulpa (Woolf y Ferguson, 2000). Esta última propiedad es un importante indicador de la calidad de frutos de manzana durante la poscosecha. Los frutos más firmes se consideran de mejor calidad (Johnston et al., 2001). En el presente estudio se produjo un significativo descenso de la firmeza durante el periodo de almacenaje en el tejido S y DS-1 tanto en Granny Smith como en Cripp's Pink. En ambos cultivares se observó una reducción de la firmeza desde el día 0 al día 120 y luego se mantuvo relativamente constante (Figura 16 A y B). La evolución de la firmeza observada coincide con Johnston et al. (2001), los cuales determinaron que el proceso de pérdida de firmeza en frutos de manzana durante la conservación en frío ocurre en tres fases: una fase inicial hasta aproximadamente los 25 días de conservación en donde no se produce descenso de la firmeza o es muy leve. Luego es seguida por una fase con una alta tasa de pérdida de firmeza hasta los 100 días aproximadamente y finalmente una etapa en la cual el fruto deja de perder firmeza o se produce muy lentamente.

La tasa de pérdida de firmeza fue similar en DS-1 y en S, lo que sugiere que este descenso no estaría relacionado con el nivel de daño por sol estudiado. Por lo tanto, el valor de firmeza inicial en cada tejido condicionaría los valores de firmeza alcanzados al

---

final del periodo de almacenaje. Según Knee y Smith (1989) en manzanas hay una significativa correlación entre la firmeza a cosecha y la firmeza alcanzada luego del período de almacenamiento.

En coincidencia con lo presentado por Schrader et al. (2009), en el presente estudio el mayor valor de firmeza inicial en el sector del fruto con DS-1, tanto en Granny Smith como en Cripp's Pink, se mantuvo durante todo el tiempo de almacenaje. Esta diferencia puede deberse a que el sector del fruto con DS-1 presenta una diferente composición de la pared celular (Woolf y Ferguson, 2000) o pérdida de agua en su tejido (Racskó et al., 2005b). Asimismo, es posible que el mayor contenido de PAs detectado en el sector DS-1 respecto a S de ambos cultivares (Tabla 3) esté también relacionado con la mayor firmeza de pulpa de este tejido y del mantenimiento de la misma durante el almacenaje (Figura 16 A y B). La naturaleza policatiónica de las PAs juega un rol similar al calcio en el mantenimiento de la firmeza de los frutos, a través de la estabilización de la pared celular. La eficiencia en el mantenimiento de la firmeza de frutos es generalmente mayor con moléculas con mayor número de cationes disponibles lo que implica que la  $\text{Spm}^{+4}$  es más eficiente que la  $\text{Spd}^{+3}$  y ésta a su vez que la  $\text{Put}^{+2}$  (Asrey et al., 2008). Los tratamientos exógenos con Put durante la conservación promueven valores más altos de firmeza y retrasan la maduración en limones (Valero et al., 1998) y manzanas (Saftner et al., 1990; Kramer et al., 1991).

Schrader et al. (2009) determinaron que, a medida que se incrementaba el nivel de daño por sol en diferentes cultivares de manzana, también aumentaba el contenido de sólidos solubles y esta tendencia se mantenía desde cosecha hasta los 6 meses de almacenaje. En concordancia con estos resultados, en el presente trabajo se observó tanto en Granny Smith como en Cripp's Pink un mayor contenido de sólidos solubles en DS-1 respecto a S a lo largo de los 180 de conservación (Figura 16 C y D). Estos resultados sugieren que la evolución del contenido de sólidos solubles en ambos cultivares está influenciada especialmente por el nivel de daño por sol y el contenido inicial y que las condiciones de conservación afectan de forma similar a S y DS-1. En ambos cultivares se detectó también un leve incremento de este parámetro a la mitad del periodo estudiado y luego un descenso hacia los 180 días. Este aumento durante el almacenaje fue observado previamente (Erturk et al., 2002; Fellman et al., 2003) y se corresponde con la disminución del contenido de almidón debido a su despolimerización (Vilaplana et al., 2006). El descenso observado en etapas más tardías implica que

---

algunos azúcares fueron usados para la respiración o en otros procesos catalíticos (Ergun et al., 2012).

Nuestros resultados indican un comportamiento diferencial de la acidez titulable durante la conservación en los dos cultivares. En Granny Smith el tejido S presentó mayor acidez respecto a DS-1 durante todo el periodo de almacenaje aunque no se detectaron variaciones significativas a lo largo de los 180 días (Figura 16 E). Por el contrario, en Cripp's Pink no se detectaron diferencias entre tejidos, pero se observó un descenso significativo de la acidez entre el día 0 y 120 de conservación (Figura 16 F). La disminución de la acidez durante el periodo de conservación de manzanas ha sido reportada anteriormente (Fellman et al., 2003; Nilsson y Gustavsson, 2007). Según Ackermann et al. (1992), el incremento de la respiración de los frutos de manzana durante el almacenamiento es responsable de la disminución del ácido málico el cual es utilizado como sustrato metabólico junto a los azúcares.

Schrader et al. (2009) determinaron una menor acidez a medida que se incrementaba el daño por sol y una disminución a medida que transcurría el tiempo de conservación. Sin embargo, Klein et al. (2001) reportaron que la acidez titulable fue similar en frutos expuestos y no expuestos a la radiación solar. Nilsson y Gustavsson (2007) sugieren que la posición de los frutos en la planta, y por lo tanto su grado de exposición a la radiación solar, tiene una escasa influencia en la acidez de los frutos de manzana.

En el presente estudio los cambios en los índices de calidad registrados se corresponden con la evolución característica de frutos de manzana durante la conservación refrigerada. La mayor firmeza y sólidos solubles observada en la etapa de madurez en DS-1 permaneció durante la etapa de almacenaje en ambos cultivares. Esto indica que las variaciones encontradas en estos parámetros fueron fuertemente influenciadas por el nivel de daño por sol al estado de madurez y en menor medida por las condiciones durante la conservación.

---

## **7.7 La concentración de poliaminas en piel de manzana durante la conservación en frío presenta variaciones según el cultivar y el nivel de daño por sol**

Bajo las condiciones de conservación del presente estudio, la evolución del contenido de PAs durante el almacenaje estuvo relacionada al tipo de tejido estudiado. En ambos cultivares se detectó al día 0 un mayor contenido de PAs en DS-1 respecto a S. Sin embargo, durante la conservación en frío se produjo en forma sostenida un incremento de la concentración de PAs totales en S, mientras que el contenido en la piel DS-1 permaneció relativamente constante (Figuras 17 A y 18 A). El incremento de PAs observado en la piel S de ambos cultivares se corresponde especialmente con la acumulación de Put (Figuras 17 B y 18 B).

El incremento de PAs y en especial Put bajo situaciones de estrés por bajas temperaturas ha sido documentado en maíz (Németh et al., 2002), tomate (Kim et al., 2002), zapallo (Shen et al., 2000) y arroz (Lee et al., 1997). Estudios realizados por Palma et al. (2014) en epidermis de zapallo zucchini determinaron que los niveles de Put aumentaron durante el almacenamiento a 4°C pero disminuyeron durante la conservación a 20°C. Este comportamiento sugiere que la Put se acumula después de la cosecha sólo en respuesta a estrés por frío y no debido al almacenamiento poscosecha en sí.

Según Martínez-Romero et al. (2000), el incremento del nivel Put debido a las bajas temperaturas podría ser una respuesta de protección contra las bajas temperaturas o una consecuencia de este tipo de estrés. Zhang et al. (2009), a partir de investigaciones en hojas de zapallo, sugieren que las PAs en especial la Put y la Spd actúan como un mecanismo antioxidante compensando el estrés oxidativo causado por las bajas temperaturas.

Los niveles de Spd y Spm en ambos cultivares fueron superiores en el tejido DS-1 respecto a S desde el inicio y durante los 180 días de conservación. Esto indica que la mayor concentración de Spd y Spm observada en el estado de madurez en el tejido DS-1 respecto a S se mantuvo a lo largo del periodo de almacenaje. Por otro lado, se detectó una diferencia en la evolución de Spd y Spm según el cultivar considerado. En S y DS-1 de Granny Smith se produjeron algunas variaciones en la concentración de Spd y Spm durante la conservación, pero luego de 180 días no se encontraron modificaciones sustanciales respecto al contenido al inicio del almacenaje (Figuras 17 C y D). Sin

---

embargo, en Cripp's Pink se produjo un incremento de Spd y de Spm en ambos tejidos estudiados a lo largo del período de conservación (Figuras 18 C y D). Previamente se han reportado en otras especies respuestas diversas en la concentración de Spd y Spm bajo condiciones de estrés por bajas temperaturas. Mientras que en algunos casos se ha observado que los niveles de Spd y Spm permanecen constantes o disminuyen (Alcázar et al., 2010; Cuevas et al., 2008), en otros se han detectado incrementos (Renaut et al., 2005).

Estas variaciones en los niveles de Put, Spd y Spm registradas durante la conservación en frío produjeron diferentes valores en la relación  $(Spd + Spm)/Put$  según el cultivar considerado. En el tejido DS-1 de Granny Smith no se producen modificaciones en el contenido relativo de PAs lo cual genera que la relación  $(Spd+Spm)/Put$  permanezca constante (Tabla 4). Por otra parte, en el tejido S se observa una disminución significativa de la relación  $(Spd+Spm)/Put$  a partir de los 90 días debido especialmente al incremento de Put. Por el contrario, en Cripp's Pink los valores de la relación  $(Spd+Spm)/Put$  en S se mantienen constantes debido al incremento proporcional de las tres PAs, mientras que en DS-1 se observa un aumento de la relación a partir de los 120 días debido al incremento de Spd y Spm. Esta diferencia encontrada en la relación  $(Spd+Spm)/Put$  entre cultivares y tipos de tejido podría estar relacionada con la respuesta frente a las condiciones de estrés por frío (Menéndez et al, 2013). Según Zheng et al. (2009) la conversión de Put en Spd y Spm, y por lo tanto la relación entre las PAs individuales, estaría posiblemente involucrada en la tolerancia al frío.

## **7.8 El incremento de poliaminas y de la capacidad antioxidante durante la conservación no evitan la peroxidación de lípidos en piel de Granny Smith y Cripp's Pink**

Las bajas temperaturas pueden producir estrés oxidativo a través del desbalance entre la producción y la degradación de EROs. El exceso de EROs produce peroxidación de lípidos, daño en las membranas y finalmente la senescencia del fruto (Chaparzadeh y Yavari, 2013). Los resultados obtenidos en Granny Smith indican una interacción significativa en la peroxidación de lípidos entre el tiempo de conservación y el tejido considerado (Figura 19 A). El día 0, la piel con DS-1 presentó valores estadísticamente

---

superiores de peroxidación lipídica respecto a S. Sin embargo, a partir de los 90 días se observó un incremento significativo de TBARs en el tejido S, mientras que en DS-1 se mantuvo constante. La mayor capacidad antioxidante en DS-1 respecto a S detectada en el estado de madurez se mantuvo durante todo el período de conservación y se observó un incremento de este parámetro en ambos tejidos luego de 180 días de almacenaje (Figura 19 C). Estos resultados coinciden con estudios realizados por Hoang et al. (2011) donde determinaron que la actividad antioxidante-DPPH en manzanas se incrementó en piel y en pulpa durante 160 días de almacenaje. Por el contrario, otros estudios indican que la capacidad antioxidante puede disminuir durante la conservación refrigerada (Vilaplana et al., 2006; Chaparzadeh y Yavari, 2013). Según Barden y Bramlage, (1994), los antioxidantes liposolubles como los carotenoides y los  $\alpha$ -tocoferoles se mantienen estables o se incrementan, mientras que los hidrosolubles disminuyen durante la conservación en frío.

Nuestros resultados mostraron que no se produjo un aumento del nivel de peroxidación de lípidos en el tejido con DS-1 en Granny Smith a lo largo del período de conservación (Figura 19 A). Por lo tanto, es posible que el mayor nivel de antioxidantes en ese sector del fruto inducido a campo a causa del estrés por elevada radiación solar aumente la tolerancia frente a las condiciones oxidativas durante la conservación en frío. Shewfelt y del Rosario, (2000) sugieren que la inducción de antioxidantes y de sistemas de defensa o reparación en respuesta a una condición de estrés inicial pueden limitar la peroxidación de lípidos cuando son sometidos a una condición de estrés posterior.

La acumulación de TBARs en el tejido S de Granny Smith sugiere que el incremento de la capacidad antioxidante y del contenido de PAs, específicamente de Put detectado en este tejido, no fue suficiente para aliviar las condiciones de estrés oxidativo a las cuales estuvo sometido durante la conservación a bajas temperaturas. Según Mirdehghan et al. (2007), el nivel normal de PAs endógenas no sería lo suficientemente alto para la adaptación a las condiciones del almacenamiento refrigerado de los frutos. Por otra parte, el efecto de la Put en condiciones de estrés por frío y sobre la estabilidad de las membranas es controversial. Según Palma et al. (2014) la acumulación de Put es una respuesta al estrés por frío y no un mecanismo de protección. Ditomaso et al. (1989) proponen que, cuando se acumula excesiva Put, ésta es oxidada por oxidasas provenientes de la pared celular lo cual resulta tóxico para las plantas. Algunos productos como aldehídos,  $H_2O_2$  y radicales libres se acumulan durante este proceso, el cual puede producir daños en la membrana plasmática. También, se propone la importancia de la Put

---

en respuesta al frío en la modulación de los niveles de otros compuestos tales como ABA y GABA, ya que la Put es un precursor de la síntesis de este último (Shelp et al., 2012; Alcázar et al., 2010).

En el caso del cultivar Cripp's Pink los tejidos S y DS-1 presentaron un aumento de la peroxidación de lípidos desde el día 0 al día 180 de conservación lo cual demuestra que las condiciones durante la conservación en frío indujeron estrés oxidativo en ambos tejidos (Figura 19 B). Según Toivonen (2003), una evidencia directa del daño oxidativo en los tejidos vegetales es la acumulación de productos de la peroxidación lipídica y la pérdida de integridad de membrana. El tejido DS-1 de Cripp's Pink presentó mayor capacidad antioxidante a cosecha y a su vez un aumento durante la conservación en frío (Figura 19 D). No obstante, este incremento fue insuficiente para evitar el daño de membrana en este tejido.

El leve incremento de los niveles de Spd y Spm producido en DS-1 de Cripp's Pink durante la conservación (Figura 18 C y D) no modificó sustancialmente el contenido total de PAs el cual se mantuvo relativamente constante durante el periodo de almacenaje (Figura 18 A). El incremento de la capacidad antioxidante durante la conservación en la piel de Cripp's Pink con DS-1 (Figura 19 D) no estaría asociado a la concentración de PAs sino a otros compuestos promotores de la actividad antioxidante. Por otra parte, en el tejido S en Cripp's Pink no se detectaron incrementos en su capacidad antioxidante (Figura 19 D) y se observó un aumento significativo de la concentración de Put, Spd y Spm a lo largo del periodo de almacenaje (Figuras 18 B, C y D). Es posible que en este cultivar se haya producido durante la conservación la reducción de compuestos que forman parte del complejo antioxidante en S.

## **7.9 El desarrollo de fisiopatías de poscosecha en piel de frutos de manzana presenta variaciones según el contenido de poliaminas y la capacidad antioxidante de los diferentes cultivares y tejidos estudiados**

Los frutos de manzana expuestos a alta radiación solar durante su crecimiento, desarrollan escaldado por sol durante su conservación en frío. Este desorden fisiológico se produce exclusivamente en la superficie del fruto que estuvo expuesta a la radiación

---

solar (Lurie et al., 1991, Contreras et al., 2008; Vita et al., 2016). Por otra parte el escaldado superficial es un desorden fisiológico de peras y manzanas causado por frío y está asociado a estrés oxidativo durante los meses de almacenamiento a baja temperatura (Du y Bramlage, 1995). La temperatura durante el almacenaje en frío de los frutos de manzana puede oscilar entre 0-3°C e influye fuertemente en los frutos dependiendo de la sensibilidad del cultivar (Johnston et al., 2002). En el presente estudio la exposición de tejidos S y DS-1 de Granny Smith y Cripp's Pink a las condiciones estresantes de la conservación en frío, promovió respuestas diferentes según el cultivar y el tipo de tejido considerado respecto al desarrollo de escaldadura de sol y escaldadura superficial.

### **7.9.1 Escaldadura por sol**

El desarrollo de escaldado por sol observado en DS-1 del cultivar Granny Smith y el incremento en la intensidad del mismo durante la conservación (Figura 21 y Foto 6) coinciden con reportes previos en el mismo cultivar (Contreras et al., 2008; Hernández et al., 2014). Aunque existe relativamente escasa información sobre el origen del oscurecimiento de la piel que se visualiza en el escaldado por sol algunas investigaciones indican que la oxidación de fenoles, en especial glicósidos de quercetina podrían ser el origen de esta fisiopatía (Hernández et al., 2014). Posiblemente ésta sea la causa por la cual en el presente estudio no se observó un incremento de la peroxidación de lípidos durante la conservación a pesar del alto nivel de incidencia y severidad de escaldado por sol detectado en DS-1 de Granny Smith. Estos resultados sugieren que la peroxidación de lípidos de membrana no estaría involucrada en el oscurecimiento de la piel. Es posible que la oxidación de otros compuestos, como es el caso de fenoles, este relacionada a esta fisiopatía.

El estrés por elevada radiación solar promovió en el sector del fruto con DS-1 en Granny Smith un mayor contenido PAs en especial Spd y Spm y mayor capacidad antioxidante. No obstante, el desarrollo de escaldadura por sol detectado en este tejido sugiere que tanto el nivel de PAs al estado de madurez, como otros compuestos antioxidantes promovidos por el estrés por alta radiación, no fueron suficientes para evitar el daño oxidativo y el desarrollo del escaldado por sol.

En contraposición al alto nivel de incidencia del escaldado por sol registrado en Granny Smith, en Cripp's Pink se observó este desorden en DS-1 sólo a partir de los 150

---

días de conservación y en muy baja incidencia e intensidad (Foto 8). Sin embargo, en este tejido se produjo un incremento de TBARs a lo largo del almacenaje. Estos resultados podrían corroborar la falta de relación entre la peroxidación de lípidos de membrana con la expresión del escaldado por sol previamente observada en el cultivar Granny Smith. A partir de las variaciones encontradas en la peroxidación de lípidos de membrana y la expresión de la escaldadura por sol es posible contemplar un sustrato diferencial de las EROs generadas durante la conservación en frío para ambos cultivares. En el caso de Granny Smith podrían ser los fenoles, en especial los glicósidos de quercetina cuya oxidación provoca el amarronamiento típico de este desorden (Hernández et al., 2014). En cambio en Cripp's Pink las EROs podrían reaccionar con los lípidos de las membranas, lo cual se expresa en el incremento de TBARs pero sin desarrollo de manchas marrones durante el almacenaje.

Al igual que lo indicado en DS-1 de Granny Smith, en Cripp's Pink también se detectó un mayor contenido de PAs y capacidad antioxidante en el estado de madurez como respuesta al estrés por elevada radiación solar. Sin embargo en Cripp's Pink se registró además el incremento de Spd y Spm durante el periodo de conservación a bajas temperaturas. La escasa incidencia del escaldado por sol en este cultivar podría estar relacionada con este incremento de PAs, las cuales han sido reportadas como protectoras de los compuestos fenólicos. Las PAs provocan una menor tasa de degradación de los compuestos fenólicos debido a que limitan la actividad de la enzima polifenoloxidasas (Jhalegar et al., 2012).

### **7.9.2 Escaldadura superficial**

En el presente estudio el desarrollo de la escaldadura superficial se limitó exclusivamente al sector S de Granny Smith y se observó en forma circundante al tejido DS-1 un sector visualmente sano el cual no presentaba ni escaldadura de sol ni superficial (Figura 22 y Fotos 6 y 7). Estos resultados concuerdan con estudios realizados en manzana por Ma y Cheng (2003) y Rodikov (2008), y en peras por Zhao et al. (2016) quienes indican que el sector de los frutos no expuesto a la radiación solar presenta mayor desarrollo de escaldadura superficial que el sector expuesto. Nuestros resultados concuerdan con Zhao et al. (2016) quienes detectaron una mayor capacidad antioxidante-DPPH a cosecha y durante toda la conservación en el sector del fruto expuesto a la

---

radiación solar. Por lo tanto, la mayor capacidad antioxidante observada en el estado de madurez en el tejido DS-1 (Figura 19 C) respecto a S, podría ser la causa de la ausencia de escaldadura superficial en DS-1 y en el tejido circundante a DS-1 en Granny Smith. Sin embargo estudios recientes sostienen que este mecanismo no está aun completamente confirmado (Wright et al., 2015).

El tejido S en Granny Smith también manifestó un incremento de la capacidad antioxidante durante la conservación, lo cual indica una respuesta del tejido frente a las condiciones causadas por el estrés por bajas temperaturas. Sin embargo, este aumento de la capacidad antioxidante no resultó suficiente para evitar el desarrollo de la escaldadura superficial. Los mecanismos antioxidantes tienen un rol fundamental en el desarrollo del escaldado superficial (Whitaker et al., 2000; Ahn et al., 2007). Bordonaba et al. (2013) sugieren que algunos antioxidantes específicos, más que el potencial antioxidante en sí mismo, son claves en la mayor o menor susceptibilidad al escaldado superficial en frutos de manzana.

El desarrollo del escaldado superficial estuvo asociado al aumento de la peroxidación lipídica en S de Granny Smith. Esto concuerda con estudios anteriores en este cultivar donde la acumulación de EROs y la peroxidación de lípidos se incrementó con el avance de la conservación y esto se correlacionó positivamente con la incidencia del escaldado superficial (Pesis et al., 2012; Mditshwa et al., 2016).

En el presente estudio se detectó un incremento del contenido de AF y de TC entre los 120 y 150 días de almacenaje en el tejido S (Figura 20 A y C), lo cual coincide con la visualización de los síntomas de escaldadura superficial. Por otra parte el tejido DS-1 también presentó un incremento del contenido de AF pero sólo se detectó un leve aumento de TC en comparación al observado en el tejido S. Según Ahn et al. (2007) los niveles de AF no estarían involucrados directamente en el desarrollo de escaldado superficial sino la acumulación de TC y MHO en la piel serían la causa de su desarrollo. La disminución de los AF durante el almacenamiento prolongado en frío se debe a una menor actividad de la AFS, así como una mayor oxidación a TC. La aparición de los síntomas de escaldado por lo general, coinciden con este período (Rupasinghe et al., 2000). Esto concuerda con lo observado en este estudio donde el incremento significativo de TC a los 120 días en S (Figura 20 C) se correlaciona con la aparición de escaldado superficial en este tejido (Foto 7).

Rodikov (2008) indica que los tejidos de manzana expuestos a la radiación solar presentan contenidos similares de AF que los no expuestos pero no se escaldan debido

---

posiblemente a que algunas sustancias inhiben la oxidación de los AF. Contreras et al. (2008) determinaron en manzanas Granny Smith que la concentración de AF y TC fue significativamente más baja en el sector con golpe de sol que en el sector sano lo que demostraría la capacidad de los tejidos afectados por daño por sol de reducir la presencia de compuestos considerados iniciadores del proceso de escaldado en manzanas.

Durante el periodo de conservación estudiado se observó en forma análoga la aparición de los síntomas de escaldadura superficial en el tejido S de Granny Smith y el incremento de Put. Estos resultados concuerdan con Rodríguez et al. (2001) quienes encontraron durante el almacenaje en frío de berenjenas un incremento sustancial de Put, el cual coincidía con la aparición externa de síntomas de daño por frío. Por otra parte, McDonald y Kushad (1986) reportaron una correlación significativa entre el aumento de Put y la gravedad del daño por enfriamiento en limones, pomelos y pimientos, y propusieron que la acumulación de Put en los tejidos podría deberse a una inducción causada por el estrés.

Durante todo el periodo de conservación estudiado no se observó desarrollo de escaldadura superficial en el tejido S de Cripp's Pink. (Foto 9). Según Calvo et al. (2008) el cultivar Cripp's Pink se clasifica como poco susceptible a la escaldadura superficial, pero cuando la cosecha es temprana y se hace una conservación por más de seis meses, los frutos son afectados por esta fisiopatía y deben ser tratados con algún antiescaldante para controlar su aparición.

En este cultivar el incremento de TBARs durante la conservación en el tejido S no estuvo correlacionado con la aparición de la escaldadura superficial en el tejido S. Aunque estudios previos indican una alta correspondencia entre la peroxidación de lípidos y esta fisiopatía (Pesis et al., 2012; Mditshwa et al., 2016), otros autores no encontraron una relación clara entre la peroxidación de lípidos y la incidencia del escaldado superficial (Bordonaba et al., 2013).

El contenido de AF en el tejido S y DS-1 de Cripp's Pink tuvo un comportamiento similar (Figura 20 B). Se observó un incremento significativo a partir de los 90 días y luego se mantuvo relativamente constante hasta los 180 días. Las concentraciones registradas fueron similares a las indicadas en el tejido S de Granny Smith. Por otra parte, los niveles de TC del tejido S y DS-1 en Cripp's Pink no se diferenciaron y ambos presentaron un incremento significativo a partir de los 120 días de conservación (Figura 20 D). Sin embargo, el nivel de TC alcanzados en el tejido S de Cripp's Pink fue 4 veces inferior al que presentó el tejido S y con escaldadura superficial en Granny Smith. Esto confirma que

---

los niveles de AF no se encuentran involucrados directamente en el desarrollo de escaldado superficial sino que la acumulación de TC en la piel sería la causa de su desarrollo (Ahn et al., 2007).

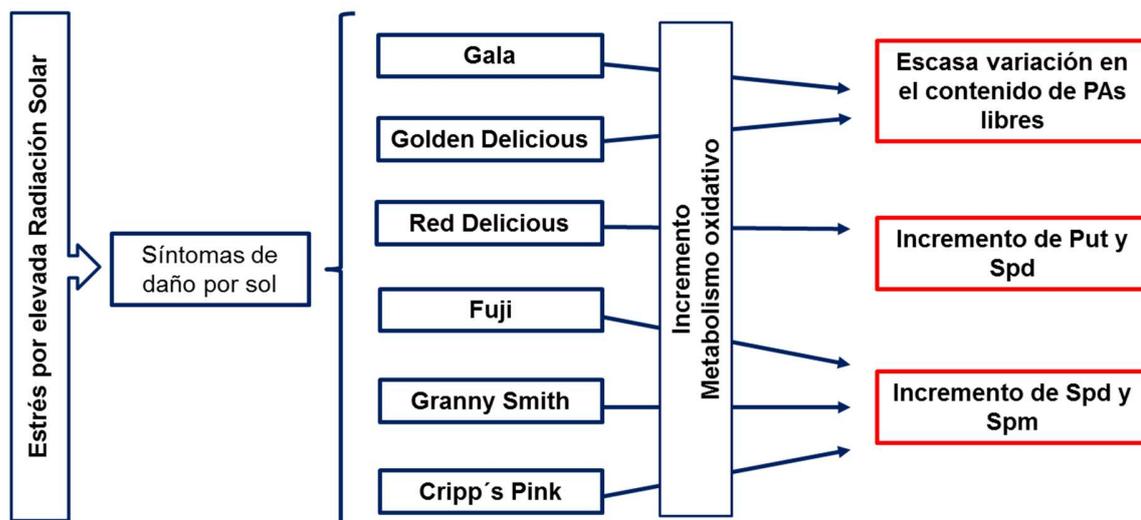
En el tejido S de Cripp's Pink no se detectó un incremento de la capacidad antioxidante a lo largo de la conservación, y se produjo un incremento significativo de contenido de Put, Spd y Spm. Según Slocum et al. (1984) los niveles de Spd y Spm parecieran no estar relacionados con la expresión de daño de los tejidos vegetales a causa del estrés por frío. Nair y Singh (2004) en frutos de mango encontraron que las bajas temperaturas promovían la acumulación de Put y la reducción de los contenidos de Spd y Spm. Sin embargo la acumulación de Put no evitó el daño por frío. La reducción de los daños por frío con la aplicación de Spd y Spm indicaría que el desarrollo de los daños por frío en mango podrían estar asociados con la biosíntesis de las PAs superiores.

Del mismo modo, Zhang et al. (2009) determinaron que en hojas de cultivares de zapallo resistentes al frío presentaban niveles superiores de Put, Spd y Spm mientras que en los cultivares sensibles sólo se observaba un leve incremento de Put.

Por lo expuesto, se sugiere que el incremento significativo de Spd y Spm detectado en nuestro estudio durante la conservación en frío en el tejido S Cripp's Pink podría formar parte de la resistencia al escaldado superficial de este cultivar.

## 8. CONCLUSIONES

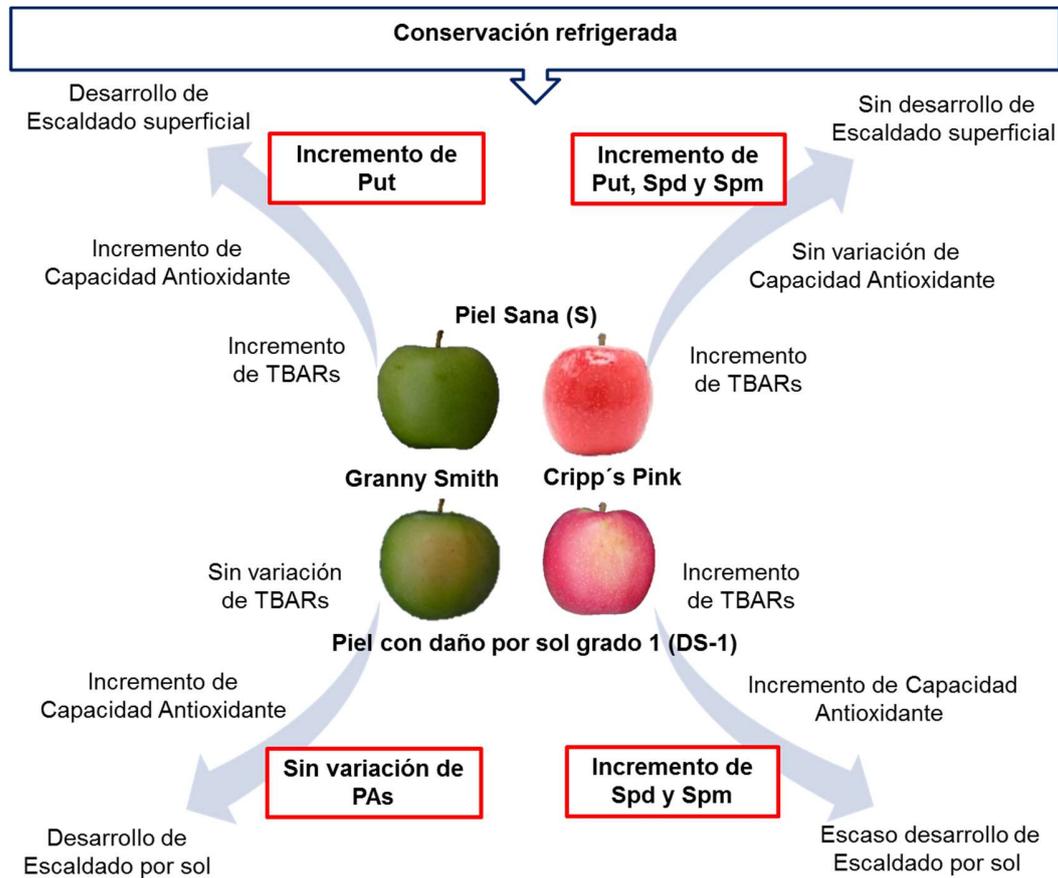
En la Figura 23 se observan las principales conclusiones obtenidas en el estado de madurez de los distintos cultivares estudiados.



**Figura 23:** Variaciones en el contenido de poliaminas (PAs) en la piel de frutos de diferentes cultivares de manzana debido a estrés por elevada radiación solar. Put: putrescina; Spd: espermidina; Spm: espermina.

- El estrés por elevada radiación solar incrementa el contenido de PAs en piel de frutos, de forma diferencial según el cultivar de manzana considerado.
- El incremento de la capacidad antioxidante y del contenido de PAs en el tejido sometido a estrés por elevada radiación solar no es suficiente para evitar el aumento de la peroxidación lipídica y los síntomas de daño por sol.

En la figura 24 se grafican las conclusiones obtenidas durante el periodo de conservación refrigerada.



**Figura 24:** Efecto de la conservación refrigerada sobre el metabolismo oxidativo, contenido de poliaminas (PAs) y desarrollo de fisiopatías de poscosecha en frutos de manzanas de los cultivares Granny Smith y Cripp's Pink. TBARs: especies reactivas al ácido tiobarbitúrico; Put: putrescina; Spd: espermidina; Spm: espermina.

- La evolución del contenido de PAs presenta diferencias según el cultivar y el tejido considerado. La concentración de Put se incrementa en el tejido sano de Granny Smith, mientras que no se producen variaciones en el tejido con daño por sol leve. En Cripp's Pink el tejido sano aumenta los niveles de Put, Spd y Spm y el tejido con daño por sol sólo Spd y Spm.

- 
- La falta de correspondencia entre el desarrollo de escaldadura por sol durante la conservación y la peroxidación de lípidos de membrana indica que este proceso no está involucrado en el oscurecimiento de la piel de manzana.
  - El aumento de la capacidad antioxidante y del contenido de Put en el tejido sano de Granny Smith no evita el incremento de la peroxidación de lípidos y el desarrollo de escaldado superficial durante la conservación.
  - El incremento de Spd y Spm en el tejido con daño por sol leve en Cripp's Pink durante la conservación refrigerada se asocia a la menor la expresión del escaldado por sol.
  - El incremento de Put, Spd y Spm en el tejido sano de Cripp's Pink durante la conservación en frío contribuye en la tolerancia al escaldado superficial de este cultivar.

---

**A partir de los resultados alcanzados en este estudio surgen algunos aspectos de interés para futuras líneas de avance tales como:**

- Profundizar el estudio de las diferencias entre cultivares de manzana en el metabolismo de PAs y su contribución en la actividad antioxidante de los frutos sometidos a condiciones estresantes por alta radiación solar.

- Realizar estudios que permitan esclarecer la participación de los antioxidantes en general y de las PAs en particular en el desarrollo del escaldado por sol en piel de frutos de manzana durante la conservación en frío.

---

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- Ackermann, J., Fischer, M., y Amado, R. 1992. Changes in sugars, acids, and amino acids during ripening and storage of apples (cv. Glockenapfel). *Journal of agricultural and food chemistry*, 40(7), 1131-1134.
- Ahmad, P., Kumar, A., Gupta, A., Hu, X., Azooz, M. M., y Sharma, S. 2012. Polyamines: role in plants under abiotic stress. *Crop production for agricultural improvement* 491-512. M. Ashraf et al. (Eds.). Springer Netherlands.
- Ahn, T., Paliyath, G., y Murr, D. P. 2007. Antioxidant enzyme activities in apple varieties and resistance to superficial scald development. *Food research international*, 40(8), 1012-1019.
- Alcázar, R., Altabella, T., Marco, F., Bortolotti, C., Reymond, M., Koncz, C., y Tiburcio, A. F. 2010. Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. *Planta*, 231(6), 1237-1249.
- Alcázar, R., Marco, F., Cuevas, J. C., Patron, M., Ferrando, A., Carrasco, P. y Altabella, T. 2006. Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. *Biotechnology letters*, 28(23), 1867-1876.
- Aly, M.; El-Megeed, N. A. y Rehab M. Awad, R. M. 2010. Reflective Particle Films Affected on, Sunburn, Yield, Mineral Composition and Fruit Maturity of 'Anna' Apple (*Malus domestica*) Trees. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 6(1), 84-92.
- Anet, E. F. L. J. 1972. Superficial scald, a functional disorder of stored apples. IX. Effect of maturity and ventilation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 23(6), 763-769.
- Angelini, R., Cona, A., Federico, R., Fincato, P., Tavladoraki, P., y Tisi, A. 2010. Plant amine oxidases "on the move": an update. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(7), 560-564.
- Asada, K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual review of plant biology*, 50(1), 601-639.
- Asrey, R., Sasikala, C., Barman, K., y Koley, T. K. 2008. Advances in post harvest treatments of fruits - A review. *Annals of Horticulture*, 1(1), 1-10.
- Bagni, N., Baraldi, R., y Costa, G. 1984. Uptake, translocation and metabolism of aliphatic polyamines in leaves and fruitlets of *Malus domestica* (cv. Ruby Spur). *Actahort* 149, 173-178.
- Bagni, N. y Pistocchi R. 1991. Uptake and transport of polyamine and inhibitors of polyamine metabolism in plants. *Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants*, 105-120. Slocum, R.D. y Flores, H.E. (Eds.). CRC Press Inc, Boca Raton, FL USA.
- Bagni, N. y Tassoni A. 2001. Biosynthesis, oxidation and conjugation of aliphatic polyamines in higher plants. *Amino acids*, 20, 301-317
- Barden, C. L., y Bramlage, W. J. 1994. Separating the effects of low temperature, ripening, and light on loss of scald susceptibility in apples before harvest. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119(1), 54-58.

- 
- Barrachina, A. C., Garrido, D. V., Romero, D. M., Mula, M. S., Carbonell, F. B., Sánchez, F. M., y Ballesteros, F. R. 2000. Poliaminas: Biosíntesis, metabolismo y su papel en la maduración y manipulación postrecolección de frutos/Polyamines: Biosynthesis, metabolism, and their role in ripening and postharvest handling of fruits. *Food Science and Technology International*, 6(2), 85-95.
- Bartosz, G. 1997. Oxidative stress in plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 19(1), 47-64.
- Benitez, C. 2001. Cosecha y Poscosecha de Peras y Manzanas, en los Valles irrigados de la Patagonia. 77-106. INTA Ediciones.
- Biasi, R., Bagni, N., y Costa, G. 1988. Endogenous polyamines in apple and their relationship to fruit set and fruit growth. *Physiologia Plantarum*, 73(2), 201-205.
- Blastoff, S.; Brandt, W.; Draeger, B. 2009. Putrescine N-methyltransferase-The start for alkaloids. *Phytochemistry*, 70, 1708–1718.
- Bitrián, M., Zarza, X., Altabella, T., Tiburcio, A. F., y Alcázar, R. 2012. Polyamines under abiotic stress: metabolic crossroads and hormonal crosstalks in plants. *Metabolites*, 2(3), 516-528.
- Bordonaba, J. G., Matthieu-Hurtiger, V., Westercamp, P., Coureau, C., Dupille, E., y Larrigaudière, C. 2013. Dynamic changes in conjugated trienols during storage may be employed to predict superficial scald in 'Granny Smith' apples. *LWT-Food Science and Technology*, 54(2), 535-541.
- Bortolotti, C., Cordeiro, A., Alcázar, R., Borrell, A., Culiáñez-Macià, F. A., Tiburcio, A. F., y Altabella, T. 2004. Localization of arginine decarboxylase in tobacco plants. *Physiologia Plantarum*, 120(1), 84-92.
- Bouchereau, A., Aziz, A., Larher, F., y Martin-Tanguy, J. 1999. Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Science*, 140(2), 103-125.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., y Berset, C. L. W. T. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Brunner, J. F., Jones, W., Kupferman, E., Xiao, C-L. Faubion, D., y Tangren, G. 2003. Information from the careful evaluation of packing line culls. WSU-TFREC Postharvest Information Network, pp. 1–6. Disponible en: <http://postharvest.tfrec.wsu.edu/PC2003B.pdf>. Fecha de consulta: 3 de julio de 2015.
- Busatto, N., Farneti, B., Tadiello, A., Vrhovsek, U., Cappellin, L., Biasioli, F., y Costa, F. 2014. Target metabolite and gene transcription profiling during the development of superficial scald in apple (*Malus x domestica* Borkh). *BMC plant biology*, 14(1), 193.
- Calvo, G., y Candan, A. P. 2012. Tendencias para la conservación de frutas de pepita. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 13 (2), 153-159.
- Calvo, G., Candan, A. P., Civello, M., Giné-Bordonaba, J., y Larrigaudière, C. 2015. An insight into the role of fruit maturity at harvest on superficial scald development in 'Beurré D'Anjou'pear. *Scientia Horticulturae*, 192, 173-179.

- 
- Calvo, G., Candan, A. P., Gomila, T., Villarreal, P. 2008. Cripp's Pink, Investigación regional sobre el comportamiento de la variedad en cosecha y poscosecha. Estación Experimental Agropecuaria Alto Valle Centro Regional Patagonia Norte. 16-17. INTA Ediciones.
- Calzadilla, P. I., Gazquez, A., Maiale, S. J., Ruiz, O. A., y Bernardina, M. A. 2014. Polyamines as indicators and modulators of the abiotic stress in plants. Plant adaptation to environmental change: Significance of amino acids and their derivatives 109–128. Anjum, N.A., Gill, S.S., Gill, R. (Eds.). CABI, Wallingford, UK.
- Campestre, M.P., Bordenave, C.D., Origone, A.C., Menéndez, A.B., Ruiz, O.A., Rodríguez, A.A., y Maiale, S.J. 2011. Polyamine catabolism is involved in response to salt stress in soybean hypocotyls. *Journal of Plant Physiology*, 168, 1234 – 1240.
- Candan, A. P., y Calvo, G. 2010. Ripening Induction of 'Packham's Triumph' Pears Treated with 1-Methylcyclopropene (1-MCP). XI International Pear Symposium 909, 731-737.
- Caverzan, A.; Casassola, A. y Patussi Brammer, S. 2016. Reactive Oxygen species and Antioxidant Enzymes Involved in Plant Tolerance to Stress. *Abiotic and Biotic Stress in Plants - Recent Advances and Future Perspectives*. 463-480. Shanker. A. K.y Shanker, C. (Eds). Springer Science and Business Media.
- Chaparzadeh, N., y Yavari, B. 2013. Antioxidant responses of Golden delicious apple under cold storage conditions. *Iran. J. Plant Physiol*, 4(1), 907-915.
- Chen, L. S., Li, P., y Cheng, L. 2008. Effects of high temperature coupled with high light on the balance between photooxidation and photoprotection in the sun-exposed peel of apple. *Planta*, 228(5), 745.
- Chen, L. S., Li, P., y Cheng, L. 2009. Comparison of thermotolerance of sun-exposed peel and shaded peel of 'Fuji' apple. *Environmental and experimental botany*, 66(1), 110-116.
- Cheng, L., Zou, Y., Ding, S., Zhang, J., Yu, X., Cao, J., y Lu, G. 2009. Polyamine accumulation in transgenic tomato enhances the tolerance to high temperature stress. *Journal of integrative plant biology*, 51(5), 489-499.
- Childs A.C., Mehta D.J., y Gerner E.W. 2003. Polyamine-dependent gene expression. *Cell. Mol. Life Sci.* 60,1394-1406.
- Cohen, S.S. 1998. *A Guide to Polyamines*, 1st edn. Oxford University Press, New York.
- Colamarino, 2010. Informe Sectorial N°1. Peras y manzanas. Informe Sectorial de las Cadenas de Origen Agrícola y Forestal. Marzo- abril 2010. Pomáceas. Disponible en: [http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/sectores/frutas/productos/dePepita/FrutasPepitas\\_2010\\_03Marzo.pdf](http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/sectores/frutas/productos/dePepita/FrutasPepitas_2010_03Marzo.pdf). Fecha de consulta: 10 de Agosto de 2015
- Colavita, G. M. 2008. Evaluación de la incidencia de asoleado en la producción de región del Alto Valle del Río Negro. *Revista Fruticultura & Diversificación* 58, 16-23.
- Colavita, G., Frassetto F. y López, L. 2005. Incidencia de daño por asoleado en frutos de manzanas en el Alto Valle de Río Negro. Libro de resúmenes del XII Congreso Latinoamericano y XXVIII Congreso Argentino de Horticultura. 116.

- 
- Cona, A., Cenci, F. y Cervelli, M. 2003. Polyamine oxidase, a hydrogen peroxide-producing enzyme, is up-regulated by light and down-regulated by auxin in the outer tissues of the maize mesocotyl. *Plant Physiology* 131, 803–813.
- Cona, A., Rea, G., Angelini, R., Federico, R., y Tavladoraki, P. 2006. Functions of amine oxidases in plant development and defence. *Trends in plant science*, 11(2), 80-88.
- Contreras, C., J.P. Zoffoli, J.A. Alcalde, y M. Ayala. 2008. Evolution of sunburn in ‘Granny Smith’ apples during storage. *Cien. Inv. Agr.* 35, 113– 122.
- Conway, W. S., Sams, C. E., Wang, C. Y., y Abbott, J. A. 1994. Additive effects of postharvest calcium and heat treatment on reducing decay and maintaining quality in apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119(1), 49-53.
- Couée, I., Hummel, I., Sulmon, C., Gouesbet, G., y El Amrani, A. 2004. Involvement of polyamines in root development. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 76(1), 1-10.
- Cuevas, J. C., López-Cobollo, R., Alcázar, R., Zarza, X., Koncz, C., Altabella, T.y Ferrando, A. 2008. Putrescine is involved in Arabidopsis freezing tolerance and cold acclimation by regulating abscisic acid levels in response to low temperature. *Plant Physiology*, 148(2), 1094-1105.
- Curtis, O. F. 1937. Vapor pressure gradients, water distribution in fruits, and so-called infra-red injury. *American Journal of Botany*, 705-710.
- DeLong, J. M., y Prange, R. K. 2003. Superficial scald: a postharvest oxidative stress disorder. *Postharvest Oxidative Stress in Horticultural Crops*. D. Mark Hodges (Ed.) Food Products Press, Haworth Press, Inc., New York, 91-112.
- Demmig-Adams, B., Adams, W. I., Logan, B. A., y Verhoeven, A. S. 1995. Xanthophyll cycle-dependent energy dissipation and flexible photosystem II efficiency in plants acclimated to light stress. *Functional Plant Biology*, 22(2), 249-260.
- Deyman, K. L., Brikis, C. J., Bozzo, G. G., y Shelp, B. J. 2014. Impact of 1-methylcyclopropene and controlled atmosphere storage on polyamine and 4-aminobutyrate levels in “Empire” apple fruit. *Plant polyamines in stress and development*, 125.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2015. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Di Rienzo, J. A., Guzmán, A. W., y Casanoves, F. 2002. A multiple-comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics*, 7(2), 129-142.
- DiTomaso, J. M., Shaff, J. E., y Kochian, L. V. 1989. Putrescine-induced wounding and its effects on membrane integrity and ion transport processes in roots of intact corn seedlings. *Plant Physiology*, 90(3), 988-995.
- do Amarante, C. V. T., Steffens, C. A., y Argenta, L. C. 2011. Yield and fruit quality of ‘Gala’ and ‘Fuji’ apple trees protected by white anti-hail net. *Scientia Horticulturae*, 129(1), 79-85.

- 
- Du, Z., y Bramlage, W. J. 1993. A modified hypothesis on the role of conjugated trienes in superficial scald development on stored apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 118(6), 807-813.
- Du, Z., y Bramlage, W. J. 1995. Peroxidative activity of apple peel in relation to development of poststorage disorders. *HortScience*, 30(4), 205-209.
- Dussi, M. C., Giardina, G., Sosa, D., González Junyent, R., Zecca, A., y Reeb, P. 2005. Shade nets effect on canopy light distribution and quality of fruit and spur leaf on apple cv. 'Fuji'. *Spanish J. Agr. Res.* 3, 253–260.
- Ekinci, N., Şeker, M., Aydın, F., y Gündoğdu, M. A. 2016. Possible chemical mechanism and determination of inhibitory effects of 1-MCP on superficial scald of the Granny Smith apple variety. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 40(1), 38-44.
- Ergun, M. 2012. Postharvest quality of 'Galaxy' apple fruit in response to kaolin-based particle film application. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14(3), 599-607.
- Erturk, U., Akbudak, B., y Ozer, M. H. 2002. Quality changes of some apple cultivars stored in normal atmosphere for long periods. In *International Conference: Postharvest Unlimited* 599 (pp. 665-672).
- Fariduddin, Q., Varshney, P., Yusuf, M., y Ahmad, A. 2013. Polyamines: potent modulators of plant responses to stress. *Journal of Plant Interactions*, 8(1), 1-16.
- Farooq, M., Wahid, A., Lee, D. J., Cheema, S. A., y Aziz, T. 2010. Drought stress: comparative time course action of the foliar applied glycinebetaine, salicylic acid, nitrous oxide, brassinosteroids and spermine in improving drought resistance of rice. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 196(5), 336-345.
- Felicetti, D. A. y Schrader, L. E. 2008. Photooxidative sunburn of apples: Characterization of a third type of apple sunburn. *Int. J. Fruit Sci.* 8(3), 160–172.
- Felicetti, D. A., y Schrader, L. E. 2009. Changes in pigment concentrations associated with sunburn browning of five apple cultivars. II. Phenolics. *Plant science*, 176(1), 84-89.
- Felicetti, D. A., y Schrader, L. E. 2010. Postharvest changes in pigment concentrations in 'Fuji' apples with 'Fuji' stain. *Scientia horticulturae*, 125(3), 283-288.
- Fellman, J. K., Rudell, D. R., Mattinson, D. S., y Mattheis, J. P. 2003. Relationship of harvest maturity to flavor regeneration after CA storage of 'Delicious' apples. *Postharvest Biology and Technology*, 27(1), 39-51.
- Feray, A., Hourmant, A., Beraud, J., Brun, A., Cann-Moisán, C., Caroff, J., y Penot, M. 1992. Influence of Polyamines on the Long Distance Transport of K (86Rb) in Potato Cuttings (*Solanum tuberosum* cv. Sirtema). Comparative Study with some Phytohormones. *Journal of experimental botany*, 43(3), 403-408.
- Flexas, J., y Medrano, H. 2002. Energy dissipation in C3 plants under drought. *Functional Plant Biology*, 29(10), 1209-1215.

- 
- Foyer, C. H., Descourvieres, P., y Kunert, K. J. 1994. Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants. *Plant, Cell & Environment*, 17(5), 507-523.
- Foyer, C. H., y Noctor, G. 2009. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications. *Antioxidants & redox signaling*, 11(4), 861-905.
- Fujita, M., y Shinozaki, K. 2015. Polyamine transport systems in plants. In *Polyamines* (pp. 179-185). Springer Japan.
- Galston, A. W., y Sawhney, R. K. 1990. Polyamines in plant physiology. *Plant Physiology*, 94(2), 406-410.
- Garg, N., y Manchanda, G. 2009. ROS generation in plants: boon or bane? *Plant Biosys.* 143, 8-96.
- Ghosh, N., Adak, M. K., Ghosh, P. D., Gupta, S., Gupta, D. S., y Mandal, C. 2011. Differential responses of two rice varieties to salt stress. *Plant Biotechnology Reports*, 5(1), 89-103.
- Gill, S. S., y Tuteja, N. 2010a. Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. *Plant signaling & behavior*, 5(1), 26-33.
- Gill, S. S., y Tuteja, N. 2010b. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Gong, Y.; Rao, L. y Yu, D. 2013. Abiotic Stress in Plants. *Agricultural Chemistry*. 113-152 Margarita Stoytcheva and Roumen Zlatev (Eds).
- Gonzalez-Aguilar, G., Wang, C. Y., y Buta, G. J. 2004. UV-C irradiation reduces breakdown and chilling injury of peaches during cold storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(5), 415-422.
- Groppa, M. D., y Benavides, M. P. 2008. Polyamines and abiotic stress: recent advances. *Amino acids*, 34(1), 35-45.
- Groppa, M. D., Ianuzzo, M. P., Tomaro, M. L., y Benavides, M. P. 2007. Polyamine metabolism in sunflower plants under long-term cadmium or copper stress. *Amino acids*, 32(2), 265-275.
- Groppa, M. D., Tomaro, M. L., y Benavides, M. P. 2001. Polyamines as protectors against cadmium or copper-induced oxidative damage in sunflower leaf discs. *Plant Science*, 161(3), 481-488.
- Guerra, R., Gardé, I. V., Antunes, M. D., da Silva, J. M., Antunes, R., y Cavaco, A. M. 2012. A possibility for non-invasive diagnosis of superficial scald in 'Rocha' pear based on chlorophyll a fluorescence, colorimetry, and the relation between  $\alpha$ -farnesene and conjugated trienols. *Scientia horticultrae*, 134, 127-138.
- Gupta, K., Dey, A., y Gupta, B. 2013. Plant polyamines in abiotic stress responses. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(7), 2015-2036.
- Ha, H. C., Yager, J. D., Woster, P. A., y Casero, R. A. 1998. Structural specificity of polyamines and polyamine analogues in the protection of DNA from strand breaks induced by reactive oxygen species. *Biochemical and biophysical research communications*, 244(1), 298-303.

- 
- Halliwell, B. 2006. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* 141, 312–22.
- Hamdani, S., Yaakoubi, H., y Carpentier, R. 2011. Polyamines interaction with thylakoid proteins during stress. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 104(1), 314-319.
- Handa, A. K., y Mattoo, A. K. 2010. Differential and functional interactions emphasize the multiple roles of polyamines in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(7), 540-546.
- Hengari, S., Theron, K. I., Midgley, S. J., y Steyn, W. J. 2014. The effect of high UV-B dosage on apple fruit photosystems at different fruit maturity stages. *Scientia Horticulturae*, 170, 103-114.
- Hernandez, O.; Torres, C. A.; Moya-León, M. A.; Opazoc, M. C. y Razmilic, I. 2014. Roles of the ascorbate–glutathione cycle, pigments and phenolics in postharvest ‘sunscald’ development on ‘Granny Smith’ apples (*Malus domestica* Borkh.) *Postharvest Biology and Technology* 87, 79–87.
- Hoang, N. T., Golding, J. B., y Wilkes, M. A. 2011. The effect of postharvest 1-MCP treatment and storage atmosphere on ‘Cripps Pink’ apple phenolics and antioxidant activity. *Food chemistry*, 127(3), 1249-1256.
- Hodges, D., Lester G., Munro K., y Toivonen P. 2004. Oxidative stress: importance for postharvest quality. *HortScience* 39, 924-929.
- Hodges, D. M., DeLong, J. M., Forney, C. F., y Prange, R. K. 1999. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207(4), 604-611.
- Huelin, F. E., y Coggiola, I. M. 1968. Superficial scald, a functional disorder of stored apples. IV Effect of variety, maturity, oiled wraps and diphenylamine on the concentration of a-farnesene in the fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 19(6), 297-301.
- Hussain, S. S., Ali, M., Ahmad, M., y Siddique, K. H. 2011. Polyamines: natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Biotechnology advances*, 29(3), 300-311.
- Ingle, M., y D'souza, M. C. 1989. Physiology and control of superficial scald of apples: a review. *HortScience* 24, 28–31.
- Ioannidis, N. E., Cruz, J. A., Kotzabasis, K., y Kramer, D. M. 2012. Evidence that putrescine modulates the higher plant photosynthetic proton circuit. *PLoS one*, 7(1), e29864.
- Jhalegar, M. J., Sharma, R. R., Pal, R. K., y Rana, V. 2011. Effect of postharvest treatments with polyamines on physiological and biochemical attributes of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) cv. Allison. *Fruits*, 67(1), 13-22.
- Johnston, J. W., Hewett, E. W., Hertog, M. L., y Harker, F. R. 2001. Temperature induces differential softening responses in apple cultivars. *Postharvest Biology and Technology*, 23(3), 185-196.

- 
- Johnston, J. W., Hewett, E. W., Hertog, M. L., y Harker, F. R. 2002. Temperature and ethylene affect induction of rapid softening in 'Granny Smith' and 'Pacific Rose™' apple cultivars. *Postharvest biology and technology*, 25(3), 257-264.
- Jones, A. L., y Aldwinckle, H. S. 1990. Compendium of apple and pear diseases. American Phytopathological Society.
- Kakkar, R.K., Nagar, P.K. y Ahuja, P.S. 2000. Polyamines and plant morphogenesis. *Plant Biology* 43, 1–11.
- Kakkar R. J. y Rai V.K. 1993. Plant polyamines in flowering and fruit ripening. *Phytochemistry*. 33: 1281-1288.
- Kakkar, R.K. y Sawhney, Y.K. 2002. Polyamine research in plants – a changing perspective. *Plant Physiology* 116, 281–292.
- Kasukabe, Y., He, L., Nada, K., Misawa, S., Ihara, I., y Tachibana, S. 2004. Overexpression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up-regulates the expression of various stress-regulated genes in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, 45(6), 712-722.
- Katerova, Z. I., y Todorova, D. 2009. Endogenous polyamines lessen membrane damages in pea plants provoked by enhanced ultraviolet-C radiation. *Plant growth regulation*, 57(2), 145-152.
- Kaur-Sawhney, R., Shih, L. M., Flores, H. E., y Galston, A. W. 1982. Relation of polyamine synthesis and titer to aging and senescence in oat leaves. *Plant physiology*, 69(2), 405-410.
- Kaur-Sawhney, R., Tiburcio, A. F., Altabella, T., y Galston, A. W. 2003. Polyamines in plants: an overview. *J Cell Mol Biol*, 2, 1-12.
- Kim, T. E., Kim, S. K., Han, T. J., Lee, J. S., y Chang, S. C. 2002. ABA and polyamines act independently in primary leaves of cold-stressed tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Physiologia Plantarum*, 115(3), 370-376.
- Klein, J. D., Dong, L., Zhou, H. W., & Lurie, S. 2001. Ripeness of shaded and sun-exposed apples (*Malus domestica*). *Acta Horticulturae*, 1, 95-98.
- Knee, M., y Smith, S. M. 1989. Variation in quality of apple fruits stored after harvest on different dates. *Journal of horticultural science*, 64(4), 413-419.
- Kondo, S., Fiebig, A., Okawa, K., Ohara, H., Kowitcharoen, L., Nimitkeatkai, H., y Kim, M. 2011. Jasmonic acid, polyamine, and antioxidant levels in apple seedlings as affected by Ultraviolet-C irradiation. *Plant Growth Regulation*, 64(1), 83-89.
- Kondo S., Tomiyama A., y Seto H. 2000. Changes of endogenous jasmonic acid and methyl jasmonate in apples and sweet cherries during fruit development. *J Am Soc Hortic Sci* 125, 282–287.
- Kondo, S., Tsuda, K., Muto, N., y Ueda, J. E. 2002. Antioxidative activity of apple skin or flesh extracts associated with fruit development on selected apple cultivars. *Scientia Horticulturae*, 96(1), 177-185.

- 
- Kramer, G. F., Norman, H. A., Krizek, D. T., y Mirecki, R. M. 1991. Influence of UV-B radiation on polyamines, lipid peroxidation and membrane lipids in cucumber. *Phytochemistry*, 30(7), 2101-2108.
- Kramer, G. F., Wang, C. Y., y Conway, W. S. 1989. Correlation of reduced softening and increased polyamine levels during low-oxygen storage of 'McIntosh' apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 114, 942-946.
- Kramer, G. F., Wang, C. Y., y Conway, W. S. 1991. Inhibition of Softening by Polyamine Application in Golden Delicious and McIntosh Apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 116(5), 813-817.
- Kubiś, J. 2005. The effect of exogenous spermidine on superoxide dismutase activity, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and superoxide radical level in barley leaves under water deficit conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, 27(3), 289-295.
- Kubiś, J. 2008. Exogenous spermidine differentially alters activities of some scavenging system enzymes, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and superoxide radical levels in water-stressed cucumber leaves. *Journal of Plant Physiology*, 165(4), 397-406.
- Kuckenbergh, J., Tartachnyk, I., y Noga, G. 2008. Evaluation of fluorescence and remission techniques for monitoring changes in peel chlorophyll and internal fruit characteristics in sunlit and shaded sides of apple fruit during shelf-life. *Postharvest Biology and Technology*, 48(2), 231-241.
- Kuznetsov, V. V., y Shevyakova, N. I. 2007. Polyamines and stress tolerance of plants. *Plant Stress*, 1(1), 50-71.
- Lamb, C., y Dixon, R. A. 1997. The oxidative burst in plant disease resistance. *Annual review of plant biology*, 48(1), 251-275.
- Larher, F.R., Aziz, A., Gibon, Y., Trotel-Aziz, P., Sulpice, R., y Bouchereau, A. 2003. An assessment of the physiological properties of the so-called compatible solutes using in vitro experiments with leaf discs. *Plant Physiol Biochem.* 1, 657-666.
- Laurenzi, M., Tipping, A.J. y Marcus, S.E. 2001. Analysis of the distribution of copper amine oxidase in cell walls of legume seedlings. *Planta* 214, 37-45.
- Lee, T. M., Lur, H. S., y Chu, C. 1997. Role of abscisic acid in chilling tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings.: II. Modulation of free polyamine levels. *Plant Science*, 126(1), 1-10.
- Lefevre, I., Gratia, E., y Lutts, S. 2001. Discrimination between the ionic and osmotic components of salt stress in relation to free polyamine level in rice (*Oryza sativa*). *Plant Science*, 161(5), 943-952.
- Lei, Y. 2008. Physiological responses of *Populus przewalskii* to oxidative burst caused by drought stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 55(6), 857-864.
- Leiting, V. A., y Wicker, L. 1997. Inorganic cations and polyamines moderate pectinesterase activity. *Journal of food science*, 62(2), 253-255.
- Lessler, M. A. 1947. Effect of a temperature gradient on distribution of water in apples. *Botanical Gazette*, 109(1), 90-94.
-

- 
- Liu, H. P., Dong, B. H., Zhang, Y. Y., Liu, Z. P., y Liu, Y. L. 2004. Relationship between osmotic stress and the levels of free, conjugated and bound polyamines in leaves of wheat seedlings. *Plant Science*, 166(5), 1261-1267.
- Lurie, S., Pesis, E., y 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., y Watkins, C. B. 2012. Superficial scald, its etiology and control. *Postharvest Biology and Technology*, 65, 44-60.
- Lütz, C., Navakoudis, E., Seidlitz, H. K., y Kotzabasis, K. 2005. Simulated solar irradiation with enhanced UV-B adjust plastid-and thylakoid-associated polyamine changes for UV-B protection. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1710(1), 24-33.
- Ma, F., y Cheng, L. 2003. The sun-exposed peel of apple fruit has higher xanthophyll cycle-dependent thermal dissipation and antioxidants of the ascorbate–glutathione pathway than the shaded peel. *Plant Science*, 165(4), 819-827.
- Ma, S., Varga, D. M., y Chen, P. M. 2001. Using accumulated cold units to predict the development of superficial scald disorder on 'd'Anjou' pears during cold storage. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 76 (3), 305-310.
- Maiale, S., Sánchez, D.H., Guirado, A., Vidal, A. y Ruiz, O.A. 2004. Spermine accumulation under salt stress. *Journal of Plant Physiology* 161, 35–42.
- Malik, A. U., y Singh, Z. 2006. Improved fruit retention, yield and fruit quality in mango with exogenous application of polyamines. *Scientia Horticulturae*, 110(2), 167-174.
- Marco, F., Alcázar, R., Altabella, T., Carrasco, P., Gill, S. S., Tuteja, N., y Tiburcio, A. F. 2012. Polyamines in Developing Stress-Resistant Crops. *Improving Crop Resistance to Abiotic Stress*, Volume 1 & Volume 2, 623-635.
- Martínez-Romero, D., Serrano, M., Carbonell, A., Burgos, L., Riquelme, F., y Valero, D. 2002. Effects of postharvest putrescine treatment on extending shelf life and reducing mechanical damage in apricot. *Journal of food science*, 67(5), 1706-1712.
- Martínez-Romero, D., Valero, D., Serrano, M., Burló, F., Carbonell, A., Burgos, L., y Riquelme, F. 2000. Exogenous polyamines and gibberellic acid effects on peach (*Prunus persica* L.) storability improvement. *Journal of Food Science*, 65(2), 288-294.
- Martin-Tanguy, J. 2001. Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches). *Plant Growth Regulation*, Vol.34, 135-148.
- McDonald, R. E., y Kushad, M. M. 1986. Accumulation of putrescine during chilling injury of fruits. *Plant physiology*, 82(1), 324-326.
- Mditshwa, A., Fawole, O. A., Vries, F., Van Der Merwe, K., Crouch, E., y Opara, U. L. 2016. Classification of 'Granny Smith' apples with different levels of superficial scald severity based on targeted metabolites and discriminant analysis. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 89.

- 
- MECON. 2014. Complejo Frutícola: Manzana y Pera. Serie Producción Regional por Complejos Productivos. Secretaría de Política Económica. Subsecretaría de Programación Económica. Dirección Nacional de Programación Económica Regional, 3-16.
- Menéndez, A. B., Rodríguez, A. A., Maiale, S. J., Rodríguez, K. M., Jimenez, B. J. F., y Ruiz, O. A. 2013. Polyamines contribution to the improvement of crop plants tolerance to abiotic stress. In *Crop improvement under adverse conditions* (pp. 113-136). Springer New York.
- Merzlyak, M. N., Solovchenko, A. E., y Chivkunova, O. B. 2002. Patterns of pigment changes in apple fruits during adaptation to high sunlight and sunscald development. *Plant Physiology and Biochemistry*, 40(6), 679-684.
- Merzlyak, M. N., y Chivkunova, O. B. 2000. Light-stress-induced pigment changes and evidence for anthocyanin photoprotection in apples. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 55(2), 155-163.
- Ministerio de Agroindustria. 2016. Frutas. Evolución de la producción Argentina de Manzana. Disponible en: <http://www.agroindustria.gov.ar/dimeagro/frutas/prod-manz-pera.php>. Fecha de consulta: 10 de enero de 2017.
- Minocha, R., Majumdar, R., y Minocha, S.C. 2014. Polyamines and abiotic stress in plants: a complex relationship. *Front. Plant Sci.* 5, 175.
- Mirdehghan, S. H., Rahemi, M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Valverde, J. M., Zapata, P. J. y Valero, D. 2007. Reduction of pomegranate chilling injury during storage after heat treatment: role of polyamines. *Postharvest Biology and Technology*, 44(1), 19-25.
- Mitcham, B., Cantwell, M., y Kader, A. 1996. Methods for determining quality of fresh commodities. *Perishables handling newsletter*, 85, 1-5.
- Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7(9), 405-410.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., y Van Breusegem, F. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci.* 9(10), 490-498.
- Moggia, C. y Yuri J. A. 2003. Apple postharvest practices in Chile. Washington tree fruit postharvest conference. December 2nd and 3rd, 2003, Wenatchee, WA Disponible en: <http://postharvest.tfrec.wsu.edu/PC2003F.pdf>. Fecha de consulta: 10 de Agosto de 2015.
- Moller, I.M., Jensen, P.E., y Hansson, A. 2007. Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58, 459-481.
- Moschou, P.N., Paschalidis, K.A., Roubelakis-Angelakis, K.A. 2008. Plant polyamine catabolism: The state of the art. *Plant Signal. Behav.*, 3, 1061-1066.
- Nair, S., y Singh, Z. 2004. Chilling injury in mango fruit in relation to biosynthesis of free polyamines. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 79(4), 515-522.
- Naka, Y., Watanabe, K., Sagor, G. H. M., Niitsu, M., Pillai, M. A., Kusano, T., y Takahashi, Y. 2010. Quantitative analysis of plant polyamines including thermospermine during growth and salinity stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(7), 527-533.

- 
- Nayyar, H. 2005. Putrescine increases floral retention, pod set and seed yield in cold stressed chickpea. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 191(5), 340-345.
- Németh, M., Janda, T., Horváth, E., Páldi, E., y Szalai, G. 2002. Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. *Plant Science*, 162(4), 569-574.
- Nilsson, T., y Gustavsson, K. E. 2007. Postharvest physiology of 'Aroma' apples in relation to position on the tree. *Postharvest biology and technology*, 43(1), 36-46.
- Pál, M, G., Szalai, T., y Janda T. 2015. Speculation: Polyamines are important in abiotic stress signaling, *Plant Science* 237, 16-23.
- Palma, F., Carvajal, F., Jamilena, M., y Garrido, D. 2014. Contribution of polyamines and other related metabolites to the maintenance of zucchini fruit quality during cold storage. *Plant Physiology and Biochemistry*, 82, 161-171.
- Palma, F., Carvajal, F., Ramos, J. M., Jamilena, M., y Garrido, D. 2015. Effect of putrescine application on maintenance of zucchini fruit quality during cold storage: Contribution of GABA shunt and other related nitrogen metabolites. *Postharvest Biology and Technology*, 99, 131-140.
- Pang, X. M., Nada, K., Liu, J. H., Kitashiba, H., Honda, C., Yamashita, H. y Moriguchi, T. 2006. Interrelationship between polyamine and ethylene in 1-methylcyclopropene treated apple fruits after harvest. *Physiologia Plantarum*, 128(2), 351-359.
- Pesis, E., Feygenberg, O., Goldenberg, L., y Sabban-Amin, R. 2012. Superficial scald symptoms in 'Granny Smith' apples associated with reactive oxygen species (ROS) accumulation. In *Proc Fla State Horticult Soc.* 125, 276-279.
- Pistocchi, R., Keller, F., Bagni, N., y Matile, P. 1988. Transport and subcellular localization of polyamines in carrot protoplasts and vacuoles. *Plant physiology*, 87(2), 514-518.
- Pottosin, I., y Shabala, S. 2014. Polyamines control of cation transport across plant membranes: implications for ion homeostasis and abiotic stress signaling. *Plant polyamines in stress and development*, 23.
- Pottosin, I., Velarde-Buendía, A. M., Bose, J., Zepeda-Jazo, I., Shabala, S., y Dobrovinskaya, O. 2014. Cross-talk between reactive oxygen species and polyamines in regulation of ion transport across the plasma membrane: implications for plant adaptive responses. *Journal of experimental botany*, 65(5), 1271-1283.
- Racsco, J., Nagy, J., Szabo, Z., Major, M., y Nyeki, J. 2005a. The impact of location, row direction, plant density and rootstocks on sunburn damage of apple cultivars. *Int. J. Hort. Sci.* 11(1), 19–30.
- Racsco, J., y Schrader, L.E., 2012. Sunburn of apple fruit: historical background, recent advances and future perspectives. *Crit. Rev. Plant Sci.* 31, 455–504.
- Racsco, J., Szabo, Z., y Nyeki, J. 2005b. Importance of supraoptimal radiance supply and sunburn effects on apple fruit quality. *Acta Biol. Szegediensis* 49, 111–114.

- 
- Racskó, J., Szabó, T., Nyéki, J., Soltész, M., Nagy, P. T., Miller, D. D., y Szabó, Z. 2010. Characterization of sunburn damage to apple fruits and leaves. *International Journal of Horticultural Science*, 16(4), 15-20.
- Raffo Benegas, M. D. y Rodríguez A. 2007. Factores que afectan el porcentaje de fruta asoleada en manzanos cv. Fuji en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén. *RIA*, 36 (1), 131-146.
- Renaut J., Hoffmann L., y Hausman J.F. 2005. Biochemical and physiological mechanisms related to cold acclimation and enhanced freezing tolerance in poplar plantlets. *Physiol Plant*. 125, 82-94.
- Roberts, M.R. 2007. Does GABA act as a signal in plants? Hints from molecular studies. *Plant Signal. Behav.*, 2, 408-409.
- Rodikov, S. A. 2008. New data on the effect of solar radiation and  $\alpha$ -farnesene on development of apple superficial scald during storage. *Russian Agricultural Sciences*, 34 (3), 162-164.
- Rodríguez A. y Muñoz A. 2006. Síntesis Agrometeorológica para el período 1990-2004 EEA Alto Valle. Ed. INTA. Boletín Divulgación Técnica 53, 4-45.
- Rodríguez, S., López, B., y Chaves, A. R. 2001. Effect of different treatments on the evolution of polyamines during refrigerated storage of eggplants. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(10), 4700-4705.
- Roy, P., Niyogi, K., SenGupta, D. N., y Ghosh, B. 2005. Spermidine treatment to rice seedlings recovers salinity stress-induced damage of plasma membrane and PM-bound H<sup>+</sup>-ATPase in salt-tolerant and salt-sensitive rice cultivars. *Plant Science*, 168(3), 583-591.
- Rudell, D. R., Mattheis, J. P., y Curry, E. A. 2008. Prestorage ultraviolet- white light irradiation alters apple peel metabolome. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(3), 1138-1147.
- Rufino, M. S., Alves, R. E., Fernandes, F. A., y Brito, E. S. 2011. Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruits extracts. *Food Research International*, 44(7), 2072-2075.
- Rupasinghe, H. V., Paliyath, G., y Murr, D. P. 2000. Sesquiterpene  $\alpha$ -farnesene synthase: partial purification, characterization, and activity in relation to superficial scald development in apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 125 (1), 111-119.
- Sabban-Amin, R., Feygenberg, O., Belausov, E., y Pesis, E. 2011. Low oxygen and 1-MCP pretreatments delay superficial scald development by reducing reactive oxygen species (ROS) accumulation in stored 'Granny Smith' apples. *Postharvest biology and technology*, 62 (3), 295-304.
- Saftner, R. A., y Baldi, B. G. 1990. Polyamine levels and tomato fruit development: possible interaction with ethylene. *Plant Physiology*, 92(2), 547-550.
- Sánchez, E. y Villareal, P. 2012. Cadena Frutales de Pepita. Programa Nacional Frutales. INTA. Estación Experimental Alto Valle. Disponible en [https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta\\_programa\\_nacional\\_frutales\\_cadena\\_frutales\\_de\\_pe.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_programa_nacional_frutales_cadena_frutales_de_pe.pdf). Fecha de consulta: 10 de Agosto de 2015.
- Sangiacomo, M. A., Calvo, G., y Valle, I. E. A. 1995. Estudio de alternativas de control de escaldadura superficial. *Actas de XVIII Congreso Arg. Horticultura. ASAHO, Argentina*.
-

- 
- Satoh, S., Ikeuchi, M., Mimuro, M., y Tanaka, A. 2001. Chlorophyll b expressed in cyanobacteria functions as a light-harvesting antenna in photosystem I through flexibility of the proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 276(6), 4293-4297.
- Scandalios J. G. 2005. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian J Medic Biologic Res.* 38(7), 995-1014.
- Schrader, L. E., Sun, J., Felicetti, D., Seo, J-H., Jedlow, L., y Zhang, J. 2003. Stress-induced disorders: Effects on apple fruit quality. *Proc. Washington Tree Fruit Postharvest Conf.* Disponible en: <http://postharvest.tfrec.wsu.edu/PC2003A.pdf>. Fecha de consulta: 10 de Agosto de 2015.
- Schrader, L. E., Zhang, J., y Duplaga, W. K. 2001. Two types of sunburn in apple caused by high fruit surface (peel) temperature. *Plant Health Progress*, 10, 1-5.
- Schrader, L. E., Zhang, J., Sun, J., Xu, J., Elfving, D. C., y Kahn, C. 2009. Postharvest changes in internal fruit quality in apples with sunburn browning. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 134(1), 148-155.
- Sebela, M., Radova, A. y Angelini, R. 2001. Endogenous levels of polyamines and abscisic acid in pepper fruits during growth and ripening. *Plant Science* 160, 197-207.
- Secretaría de Fruticultura. 2013. Propuestas para una Fruticultura Sustentable. Provincia de Río Negro. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca.
- SENASA. 2015. Anuario estadístico 2015. Centro Regional Patagonia Norte. Disponible en: [http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/anuario\\_estadistico\\_2015\\_-\\_senasa\\_crpn.pdf](http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/anuario_estadistico_2015_-_senasa_crpn.pdf). Fecha de consulta: 10 de enero de 2017.
- Sharma, P., Jha A.B., Dubey R.S., Pessarakli M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *J Botany*. 2012, 1-26.
- Shelp, B. J., Bozzo, G. G., Trobacher, C. P., Zarei, A., Deyman, K. L., y Brikis, C. J. 2012. Hypothesis/review: contribution of putrescine to 4-aminobutyrate (GABA) production in response to abiotic stress. *Plant Science*, 193, 130-135.
- Shen, W., Nada, K., y Tachibana, S. 2000. Involvement of polyamines in the chilling tolerance of cucumber cultivars. *Plant Physiology*, 124(1), 431-440.
- Shewfelt, R. L., y Del Rosario, B. A. 2000. The role of lipid peroxidation in storage disorders of fresh fruits and vegetables. *HortScience*, 35 (4), 575-579.
- Shu, S., Yuan, L. Y., Guo, S. R., Sun, J., y Liu, C. J. 2012. Effects of exogenous spermidine on photosynthesis, xanthophyll cycle and endogenous polyamines in cucumber seedlings exposed to salinity. *African Journal of Biotechnology*, 11(22), 6064-6074.
- Sibbett, G., Micke, W., Mitchell, F., Mayer, G., y Yeager, J. 1991. Effect of a topically applied whitener on sun damage to Granny Smith apples. *California Agriculture*, 45(1), 9-10.
- Slocum, R.D. 1991. Tissue and subcellular localization of polyamines and enzymes of polyamine metabolism. *Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants*, 105-120. Slocum, R.D. y Flores, H.E. (Eds.). CRC Press Inc, Boca Raton, FL USA.
-

- 
- Slocum, R. D., Kaur-Sawhney, R., y Galston, A. W. 1984. The physiology and biochemistry of polyamines in plants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 235(2), 283-303.
- Smirnoff, N., y Cumbes, Q. J. 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, 28(4), 1057-1060.
- Smit, A., Steyn, W. J., y Wand, S.J.E. 2008. Effects of shade netting on gas exchange of blushed apple cultivars. *Acta Hort.* 772, 73–80.
- Solovchenko, A. E., Avertcheva, O. V., y Merzlyak, M. N. 2006. Elevated sunlight promotes ripening-associated pigment changes in apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 40(2), 183-189.
- Tadolini, B. 1988. Polyamine inhibition of lipoperoxidation. The influence of polyamines on iron oxidation in the presence of compounds mimicking phospholipid polar heads. *Biochemical Journal*, 249(1), 33-36.
- Taiz, L. y Seiger, E. 2010. *Stress Physiology. Plant Physiology*, 5º Edición. 591-623. Editorial Sinauer.
- Tang, W., Newton, R. J., Li, C., y Charles, T. M. 2007. Enhanced stress tolerance in transgenic pine expressing the pepper CaPF1 gene is associated with the polyamine biosynthesis. *Plant cell reports*, 26(1), 115-124.
- Tartachnyk, I., Kuckenbergh, J., Yuri, J. A., y Noga, G. 2012. Identifying fruit characteristics for non-invasive detection of sunburn in apple. *Scientia Horticulturae*, 134, 108-113.
- Tassoni, A., Fornalè, S., y Bagni, N. 2003. Putative ornithine decarboxylase activity in *Arabidopsis thaliana*: inhibition and intracellular localisation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41(10), 871-875.
- Tassoni, A., van Buuren, M., Franceschetti, M., Fornalè, S., y Bagni, N. 2000. Polyamine content and metabolism in *Arabidopsis thaliana* and effect of spermidine on plant development. *Plant Physiology and Biochemistry*, 38(5), 383-393.
- Tiburcio, A. F., Altabella, T., Borrell, A., y Masgrau, C. 1997. Polyamine metabolism and its regulation. *Physiologia Plantarum*, 100(3), 664-674.
- Tiburcio, A. F., Kaur-Sawhney, R., y Galston, A. W. 1990. Polyamine metabolism. *The Biochemistry of Plants, Intermediary Nitrogen Metabolism*, 16, 283-317. Editores: Mifflia BJ, Lea P J. Academic press Inc.
- Toivonen, P. M. 2003. Postharvest treatments to control oxidative stress in fruits and vegetables. *Postharvest Oxidative Stress in Horticultural Crops*. D. Mark Hodges (Ed.) Food Products Press, Haworth Press, Inc., New York, 69-81.
- Toranzo, J. 2016. Producción mundial de manzanas y peras. Programa Nacional Frutales. Revisión mayo 2016. Estación Experimental Agropecuaria Alto Valle. INTA Ediciones, 27-28.
- Torres, C. A., Sepulveda, A., Gonzalez-Talice, J., Yuri, J. A., y Razmilic, I. 2013. Fruit water relations and osmoregulation on apples (*Malus domestica* Borkh.) with different sun exposures and sun-injury levels on the tree. *Scientia Horticulturae*, 161, 143-152.

- 
- Torrighiani, P., Serafini-Fracassini, D., y Bagni, N. 1987. Polyamine biosynthesis and effect of dicyclohexylamine during the cell cycle of *Helianthus tuberosus tuber*. Plant physiology, 84(1), 148-152.
- Toumi, I., Moschou, P.N., Paschalidis, K.A., Bouamama, B., Salem-Fnayou, A.B., Ghorbel, A.W., Mliki, A. y Roubelakis-Angelakis, K.A. 2010. Abscisic acid signals reorientation of polyamine metabolism to orchestrate stress response via the polyamine exodus pathway in grapevine. Journal of Plant Physiology 167, 519–525.
- Tsantili, E., Gapper, N. E., Arquiza, J. A., Whitaker, B. D., y Watkins, C. B. 2007. Ethylene and  $\alpha$ -farnesene metabolism in green and red skin of three apple cultivars in response to 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment. Journal of agricultural and food chemistry, 55 (13), 5267-5276.
- Tun, N. N., Santa-Catarina, C., Begum, T., Silveira, V., Handro, W., Floh, E. I. S., y Scherer, G. F. 2006. Polyamines induce rapid biosynthesis of nitric oxide (NO) in *Arabidopsis thaliana* seedlings. Plant and Cell Physiology, 47(3), 346-354.
- Unal, D., Tuney, I., y Sukatar, A. 2008. The role of external polyamines on photosynthetic responses, lipid peroxidation, protein and chlorophyll a content under the UV-A (352nm) stress in *Physcia semipinnata*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 90(1), 64-68.
- Urano, K., Yoshiba, Y., Nanjo, T., Igarashi, Y., Seki, M., Sekiguchi, F. y Shinozaki, K. 2003. Characterization of Arabidopsis genes involved in biosynthesis of polyamines in abiotic stress responses and developmental stages. Plant, Cell & Environment, 26(11), 1917-1926.
- Valero, D., Martínez-Romero, D., y Serrano, M. 2002. The role of polyamines in the improvement of the shelf life of fruit. Trends in Food Science & Technology, 13(6), 228-234.
- Valero, D., Martínez-Romero, D., Serrano, M., y Riquelme, F. 1998. Influence of postharvest treatment with putrescine and calcium on endogenous polyamines, firmness, and abscisic acid in lemon (*Citrus lemon* L. Burm Cv. Verna). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(6), 2102-2109.
- Vidal Aguilar, Y., Pérez Márquez, A., y Fernández García, L. 2015. Nitric oxide and its role in plant responses to water stress. Cultivos Tropicales, 36 (Suppl. 1), 51-58.
- Vilaplana, R., Valentines, M. C., Toivonen, P., y Larrigaudière, C. 200). Antioxidant Potential and Peroxidative State of Golden Smoothie Apples Treated with 1-Methylcyclopropene. Journal of the American Society for Horticultural Science, 131(1), 104-109.
- Vita, L.I., Gonzalez, N.F. y Colavita, G.M. 2016. Effect of preharvest solar radiation on apple skin oxidative disorders during cold storage. Acta Hort. 1144, 325-332.
- Wand, S.J.E., Theron, K. I., Ackerman, J., y Marais, S.J.S. 2006. Harvest and post-harvest apple fruit quality following applications of kaolin particle film in South African orchards. Sci. Hort. 107, 271–276.
- Wang, C.Y. y G.F. Kramer. 1989. Effect of low-oxygen storage on polyamine levels and senescence in Chinese cabbage, zucchini squash and McIntosh apples, p. 19-27. Fifth Proc. Intl. Controlled Atmosphere Res. Conf. vol. 2. Wenatchee, Wash.
-

- 
- Watkins, C. B., Bramlage, W. J., y Cregoe, B. A. 1995. Superficial scald of Granny Smith' apples is expressed as a typical chilling injury. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 120 (1), 88-94.
- Wellburn, A. R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of plant physiology*, 144(3), 307-313.
- Wen, X. P., Pang, X. M., Matsuda, N., Kita, M., Inoue, H., Hao, Y. J., y Moriguchi, T. 2008. Over-expression of the apple spermidine synthase gene in pear confers multiple abiotic stress tolerance by altering polyamine titers. *Transgenic research*, 17(2), 251-263.
- Whitaker, B. D. 2004. Oxidative stress and superficial scald of apple fruit. *HortScience*, 39(5), 933-937.
- Whitaker, B. D. 2007. Oxidation products of  $\alpha$ -farnesene associated with superficial scald development in d'Anjou pear fruits are conjugated trienols. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(9), 3708-3712.
- Whitaker, B. D., Nock, J. F., y Watkins, C. B. 2000. Peel tissue  $\alpha$ -farnesene and conjugated trienol concentrations during storage of 'White Angel' x 'Rome Beauty' hybrid apple selections susceptible and resistant to superficial scald. *Postharvest biology and technology*, 20(3), 231-241.
- Whitaker, B. D., Villalobos-Acuna, M., Mitcham, E. J., y Mattheis, J. P. 2009. Superficial scald susceptibility and  $\alpha$ -farnesene metabolism in 'Bartlett' pears grown in California and Washington. *Postharvest biology and technology*, 53 (1), 43-50.
- Wimalasekera, R., Tebartz, F., y Scherer, G. F. 2011. Polyamines, polyamine oxidases and nitric oxide in development, abiotic and biotic stresses. *Plant Science*, 181(5), 593-603.
- Wismer, W. V. 2003. Low temperature as a causative agent of oxidative stress in postharvest crops. *Postharvest Oxidative Stress in Horticultural Crops*. D. Mark Hodges (Ed.) Food Products Press, Haworth Press, Inc., New York, 55-68.
- Woolf, A. B., y Ferguson, I. B. 2000. Postharvest responses to high fruit temperatures in the field. *Postharvest Biology and Technology*, 21(1), 7-20.
- Wright, A. H., DeLong, J. M., Arul, J., y Prange, R. K. 2015. The trend toward lower oxygen levels during apple (*Malus x domestica* Borkh) storage. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 90(1), 1-13.
- Wünsche, J. N., Bowen, J., Ferguson, I., Woolf, A., y McGhie, T. 2004. Sunburn on apples – Causes and control mechanisms. *Acta Hort.* 636, 631–636.
- Yang, J., Zhang, J., Liu, K., Wang, Z., y Liu, L. 2007. Involvement of polyamines in the drought resistance of rice. *Journal of Experimental Botany*, 58(6), 1545-1555.
- Yiu, J. C., Juang, L. D., Fang, D. Y. T., Liu, C. W., y Wu, S. J. 2009. Exogenous putrescine reduces flooding-induced oxidative damage by increasing the antioxidant properties of Welsh onion. *Scientia Horticulturae*, 120(3), 306-314.

- 
- Yuri, J.A., Lepe, V., Sepúlveda, A., Bastías, R., Moggia, C., González, J., Lobos, G., y Ienn, M., 2008. Sunburn on apples: fifteen years of research in Chile supports heat as the main cause of damage. *Hort. Sci.* 43 (4), 1110.
- Yuri, J. A., Neira, A., Maldonado, F., Quilodran, A., Simeone, D., Razmilic, I., y Palomo, I. 2014. Total phenol and quercetin content and antioxidant activity in apples in response to thermal, light stress and to organic management. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 87.
- Yuri, J. A., Neira, A., Quilodran, A., Razmilic, I., Motomura, Y., Torres, C., y Palomo, I. 2010. Sunburn on apples is associated with increases in phenolic compounds and antioxidant activity as a function of the cultivar and areas of the fruit. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 8(2), 920-925.
- Yuri, J. A., Torres, C., Bastías, R., y Neira, Y. A. 2000. Sunburn on apples. II. Inducing factors and biochemical responses. *Agro-Ciencia* 16(1), 23–32.
- Zacchini, M., y de Agazio, M. 2004. Spread of oxidative damage and antioxidative response through cell layers of tobacco callus after UV-C treatment. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42(5), 445-450.
- Zapata, P. J., Serrano, M., Pretel, M. T., Amorós, A., y Botella, M. Á. 2004. Polyamines and ethylene changes during germination of different plant species under salinity. *Plant Science*, 167(4), 781-788.
- Zhang, W., Jiang, B., Li, W., Song, H., Yu, Y., y Chen, J. 2009. Polyamines enhance chilling tolerance of cucumber (*Cucumis sativus* L.) through modulating antioxidative system. *Scientia Horticulturae*, 122(2), 200-208.
- Zhao, J., Xie, X., Shen, X., y Wang, Y. 2016. Effect of sunlight-exposure on antioxidants and antioxidant enzyme activities in 'd'Anjou'pear in relation to superficial scald development. *Food chemistry*, 210, 18-25.
- Zheng, Y. Y., Hu, J., Xu, S. C., Guan, Y. J., y Wang, X. J. 2009. Relationship between polyamine changes in embryos of maize and seed imbibitional chilling tolerance. *Seed Science and Technology*, 37(1), 59-69.