



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ingeniería Agrícola - Programa de Magíster en Ingeniería Agrícola

**Influencia de las características histológicas,
físico-químicas y mecánicas en la susceptibilidad al pitting
de distintos cultivares de cereza (*Prunus avium* L.) de la
zona sur de Chile, y estudio de la evolución del daño
interno en cerezas cv. Sweetheart**

Tesis para optar al grado de Magíster en Ingeniería Agrícola mención Agroindustrias

BRENDA LISETH ESPINOZA SANDOVAL
CHILLÁN-CHILE
2015

Profesora Guía: María Eugenia González Rodríguez
Dpto. de Agroindustrias, Facultad de Ingeniería Agrícola
Universidad de Concepción

Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ingeniería Agrícola - Programa de Magíster en Ingeniería Agrícola

**Influencia de las características histológicas,
físico-químicas y mecánicas en la susceptibilidad al pitting
de distintos cultivares de cereza (*Prunus avium* L.) de la
zona sur de Chile, y estudio de la evolución del daño
interno en cerezas cv. Sweetheart**



Tesis para optar al grado de Magíster en Ingeniería Agrícola mención Agroindustrias

BRENDA LISETH ESPINOZA SANDOVAL
CHILLÁN-CHILE
2015

Profesora Guía: María Eugenia González Rodríguez
Dpto. de Agroindustrias, Facultad de Ingeniería Agrícola
Universidad de Concepción

Influencia de las características histológicas, físico-químicas y mecánicas en la susceptibilidad al pitting de distintos cultivares de cereza (*Prunus avium* L.) de la zona sur de Chile, y estudio de la evolución del daño interno en cerezas cv. Sweetheart

Aprobado:

María Eugenia González Rodríguez
Ingeniero Agrónomo, Ph. D.

Profesora Guía

Natalia Fabiola Valderrama Valdés
Ingeniero Civil, Mg.

Evaluadora Interna

Víctor Lionel Finot
Licenciado en Biología, Dr.

Evaluador Externo

Pedro Santiago Melín Marín
Ingeniero Agrónomo, M. Sc. Dr(c).

Evaluador Interno

Mario Lillo Saavedra
Ingeniero Civil Eléctrico, Dr.

Director (s) de Programa



AGRADECIMIENTO

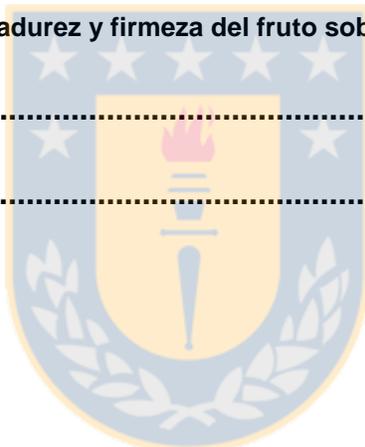
Se agradece al Programa FONDECYT por su apoyo financiero a través del proyecto N°11110231, How do fruit turgor and physiological parameters affect pitting susceptibility during postharvest storage in sweet cherries?



ÍNDICE DE MATERIA

RESUMEN	1
ABSTRACT.....	3
1. INTRODUCCIÓN	4
2. OBJETIVOS.....	6
2.1 Objetivo general.....	6
2.2 Objetivos específicos.....	6
3. ANTECEDENTES GENERALES.....	7
3.1 Importancia comercial del cultivo de cerezos en Chile.....	7
3.2 Características de las cerezas	7
3.3 Descripción de las características anatómicas de la cereza	8
3.4 Depresión superficial (pitting).....	9
3.5 Factores que influyen en la susceptibilidad al pitting.....	10
3.6 Descripción del daño a nivel histológico.....	11
3.7 Cambios originados en el color y textura	12
3.8 Características mecánicas del tejido.....	13
4. MATERIALES Y MÉTODOS	15
4.1 Material vegetal.....	15
4.2 Caracterización de los cultivares.....	15
4.2.1 Características físico-químicas.....	15
4.2.2 Propiedades mecánicas del tejido	16
4.2.3 Características histológicas	17
4.3 Análisis de daño por pitting	19
4.3.1 Pitting comercial.....	19
4.3.2 Pitting inducido.....	19
4.4 Determinación de firmeza del fruto	21
4.5 Determinación de daño por pitting a nivel celular y superficial	21

4.6	Análisis de la influencia del estado de madurez sobre daño por pitting	22
4.7	Diseño Experimental y Análisis Estadístico	22
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
5.1	Pitting inducido.....	23
5.2	Pitting comercial.....	24
5.3	Caracterización físico-química de cerezas recién cosechadas.....	25
5.4	Propiedades mecánicas del tejido	26
5.5	Caracterización histológica.....	27
5.6	Evaluación de pitting a nivel celular.....	31
5.7	Daño externo asociado al daño celular.....	32
5.8	Influencia del estado de madurez y firmeza del fruto sobre el daño por pitting	35
6.	CONCLUSIONES	38
	BIBLIOGRAFÍA	39



ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 (a) Corte transversal de fruto de guinda, indicando cada una de sus partes (b) Vista transversal de epidermis e hipodermis (c) Vista transversal de células del mesocarpo, ubicadas entre hipodermis y el anillo de tejido vascular (Adaptado de Tukey y Young, 1939).....	9
Figura 2 Modelo de curva fuerza v/s desplazamiento, indicando cada uno de los parámetros medidos utilizados en la caracterización de los cultivares evaluados.....	16
Figura 3 Sección de tejido sano de cereza indicando los parámetros histológicos utilizados para la caracterización de los cultivares. Además se indica la orientación de las longitudes periclinal y anticlinal utilizadas en la medición de células individuales. a. Cutícula b. Epidermis c. Hipodermis d. Mesocarpo.....	18
Figura 4 Dispositivo utilizado para originar el daño por impacto en cerezas, cuya energía de impacto al ser dejado caer desde un ángulo de 90° es de 0,0107 J.....	20
Figura 5 Evolución del pitting durante el almacenamiento refrigerado (3°C), en los distintos cultivares.....	23
Figura 6 Evaluación del pitting comercial, expresado como Índice de pitting (IP), en los distintos cultivares estudiados durante el tiempo de almacenamiento.....	24
Figura 7 Sección de tejido sano de cultivares evaluados. (a) Sweetheart, (b) Regina, (c) Kordia y (d) Lapins.....	28
Figura 8 Visualización de área celular dañada por pitting, mediante microscopía de fluorescencia.....	31

Figura 9	Evolución en el tiempo del daño celular, en función de la energía de impacto.....	32
Figura 10	Evolución en el tiempo de la depresión superficial, en función de la energía de impacto.....	33
Figura 11	Evidencia de pérdida de peso en la curvatura del tejido. a) Día 0, b) Día 4 y c) Día 7.....	34
Figura 12	Correlación entre área de daño y firmeza en estado de madurez a) Rojo y b) Rojo oscuro.....	37



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Diferencias en las características fisicoquímicas entre los 4 cultivares bajo estudio.....	25
Tabla 2	Diferencias en las características mecánicas del tejido entre los 4 cultivares bajo estudio.....	26
Tabla 3	Diferencias en las características histológicas entre los 4 cultivares bajo estudio.....	29
Tabla 4	Análisis de la variabilidad del tamaño de células del mesocarpo expresado mediante coeficientes de variación (%), en cada uno de los cultivares estudiados.....	30
Tabla 5	Análisis de correlación lineal entre daño por pitting a nivel interno y externo, en cerezas del cultivar Sweetheart. (N = 55).....	35
Tabla 6	Análisis de la magnitud de daño por pitting (externo) y la firmeza en función del estado de madurez.....	35
Tabla 7	Análisis de correlación lineal entre daño por pitting a nivel interno y firmeza del fruto, en cerezas de cultivar Sweetheart. (N = 129)..	36
Tabla 8	Análisis de correlación lineal entre magnitud de daño por pitting a nivel externo y firmeza del fruto, en dos estados de madurez de cerezas de cultivar Sweetheart. (N = 114).....	36

RESUMEN

Se determinó la susceptibilidad al pitting que presentan distintos cultivares de cereza procedentes de la Región del Biobío y se caracterizó la evolución del daño y la incidencia de la firmeza inicial del fruto en la expresión del pitting en el cultivar Sweetheart.

Para esto se cosecharon cerezas de los cultivares Regina, Lapins, Kordia y Sweetheart, se caracterizaron desde el punto de vista físico-químico, de sus propiedades mecánicas y a nivel histológico. A frutos de cada uno de los cultivares se les indujo daño mecánico mediante el impacto de un péndulo. El daño por pitting se evaluó a los días 0, 7, 14 y 21 mediante el análisis de imágenes correspondientes a la impresión del daño con un molde de alginato.

Por otro lado, en cerezas del cultivar Sweetheart provenientes de California (USA), se analizó el pitting, a nivel interno y externo, asociado a distintas energías de impacto. Se determinó la influencia del estado de madurez sobre el daño por pitting.

Regina resultó ser el cultivar más resistente al pitting mientras Sweetheart fue el más susceptible, Lapins y Kordia presentaron una susceptibilidad intermedia.

La mayor susceptibilidad que presenta el cultivar Sweetheart al pitting puede ser explicado en términos de la alta rigidez de su piel, medida a través de las propiedades mecánicas de la misma, expresando un alto valor del módulo de elasticidad asociado a la primera linealización de la curva fuerza v/s desplazamiento lo que se corrobora en las medidas histológicas con tamaño mayor de sus células epidérmicas y un mayor espesor de la cutícula.

El pitting a nivel externo no fue visible el día 0, se hace visible durante la primera semana en almacenamiento y aumenta en el tiempo.

A nivel celular, la lesión se caracterizó por una zona de tejido compuesto de células no viables (no fluorescentes). Fue visible a partir del mismo momento en que se originó el impacto, sin presentar variaciones durante el tiempo de almacenamiento.

A mayor energía de impacto el daño por pitting fue mayor, tanto a nivel interno como externo. Existió una relación significativa entre daño por pitting a nivel interno y

externo. En frutos en estado de madurez rojo oscuro la firmeza se relacionó significativamente con el daño externo, aunque esta relación fue baja. No existió relación de la firmeza con el daño a nivel interno.



ABSTRACT

Pitting susceptibility of different cherry cultivars from Biobío Region was evaluated. Damage evolution during refrigerated storage and the incidence of initial fruit firmness in the expression of pitting in Sweetheart were determined.

Regina, Lapins, Kordia and Sweetheart cultivars were harvested and characterized for chemical, physical, mechanical and histological properties. Then, fruits samples were mechanically damaged with a pendulum method. Pitting damage was evaluated at days 0, 7, 14, and 21, after non destructively obtaining a mold of the pit surface and using image analysis to quantify the damaged area on the impression.

Also, in Sweetheart cultivar internal and external damage was associated to different levels of energy and the influence of maturity stage over pitting damage was determined.

Regina was the most resistant cultivar to pitting damage while Sweetheart was the most susceptible, Lapins and Kordia showed intermediate susceptibility.

The higher susceptibility to pitting damage expressed in Sweetheart cultivar was explained by the low elasticity of its skin, demonstrated by the higher value of the modulus of elasticity associated with the first linearization of the force v/s displacement curve, and was related to its larger epidermis cells and higher cuticle thickness, measured by histological methods.

Pitting was not externally visible on day 0, it became visible during the first week of storage and increased over time.

At the cellular level, the damage area was characterized by non viable cells. The internal damage was observed immediately after the pendulum impact and showed no variation during storage time. The higher the energy impact applied the higher the pitting damage at the internal and external level. Fruit firmness was significantly related to the external damage, only in dark red maturity stage. There was no relationship between firmness and internal damage.

1. INTRODUCCIÓN

Las cerezas (*Prunus avium* L.) son cultivadas comercialmente en más de 40 países en el mundo (Basanta *et al.*, 2013). Esta fruta es principalmente producida en el hemisferio norte del planeta, de allí la importancia de la producción de esta fruta en Chile, ya que nuestro país es el principal productor de cereza en contraestación (Basanta *et al.*, 2013), permitiendo convertirse en el principal proveedor de cereza fresca para su consumo en países como EE.UU, China o de Europa.

Esta ventaja comparativa frente a otros países si bien le permite comercializar sus productos prácticamente sin competencia, no lo exime de cumplir con estrictas normas de calidad exigidas en los mercados de destino. El cumplimiento de estas exigencias se agrava ante el largo período de transporte para llegar con las cerezas a dichos mercados extranjeros.

La cereza se caracteriza por ser una fruta altamente perecible, cuyo principal defecto de calidad es el pitting, que consiste en una o más depresiones en la superficie del fruto causada por el colapso de células del mesocarpo, principalmente debidas a daño por impacto. Si bien esta lesión no afecta el sabor ni el aroma de la fruta si altera su apariencia física, la cual es una de las principales características organolépticas que llevan a aceptar un producto.

Esta lesión puede ser causada durante la cosecha o incluso antes, aunque el daño se origina principalmente durante su manipulación en poscosecha. El pitting no aparece inmediatamente después que se ha originado el impacto, sino que se evidencia después de una semana de almacenamiento en frío (Thompson *et al.*, 1997), por lo que fruta aparentemente sana al inicio del viaje puede llegar a destino con serios defectos de calidad que hagan a sus compradores rechazar el envío.

Tomando en cuenta este serio problema se hace indispensable observar y entender qué es lo que ocurre a nivel celular para así comprender lo que externamente aparece como un defecto de calidad.

Además se hace evidente la necesidad de determinar cuáles son los factores que influyen en la susceptibilidad al pitting, entre los cuales se encuentra el cultivar,

donde cada uno presenta características físico-químicas determinadas que los hace responder de diferente forma frente a este daño. Por tanto es importante especificar qué cultivares son los más resistentes a este daño y comprender las características que infieren resistencia, lo que sumado a un adecuado manejo poscosecha permitan contar con cerezas de alta calidad para exportación.



2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

- Determinar la susceptibilidad al pitting de cuatro cultivares de cereza, Lapins, Regina, Kordia y Sweetheart en la zona sur de Chile, y caracterizar la evolución del daño y la incidencia de la firmeza inicial del fruto en la expresión del mismo en el cultivar Sweetheart.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar las características físico-químicas, mecánicas e histológicas para cada uno de los cultivares de cereza bajo estudio y relacionarlas con la susceptibilidad al pitting.
- Evaluar la influencia del tiempo de almacenamiento y la energía de impacto en el daño por pitting, tanto a nivel interno como superficial.
- Cuantificar el área celular dañada por pitting mediante microscopía de fluorescencia y relacionarla con la expresión visual (externa) del daño y con la firmeza del fruto.
- Relacionar la severidad de daño externo por pitting con el estado de madurez y la firmeza inicial del fruto.

3. ANTECEDENTES GENERALES

3.1 Importancia comercial del cultivo de cerezos en Chile

La cereza es un fruto cultivado predominantemente en el hemisferio norte y altamente apetecido por los consumidores de esta parte del mundo. El cerezo constituye un importante cultivo en Chile, siendo el principal país productor de cerezas en contraestación (Basanta *et al.*, 2013), ocupando el tercer lugar en volumen exportado, durante la temporada 2011/2012 se exportaron 71.000 toneladas, un 23% más que la temporada anterior. Según estadísticas de Odepa (2013) durante los últimos 10 años se ha producido un incremento de 132% en la superficie cultivada de cerezos en Chile, alcanzando durante el año 2013 una superficie de 16.243 ha. En cuanto a su distribución, ésta se concentra principalmente en la Región del Maule con una superficie de 8.087 ha.; en tercer lugar se encuentra la Región del Biobío con un área cultivada de 1.309 ha. Dado el clima presente en esta zona, caracterizado por lluvias y heladas primaverales se opta por cultivares de maduración tardía o semitardía como son Lapins, Kordia, Regina y Sweetheart (Ellena *et al.*, 2006).

Si bien es cierto que Chile presenta una ventaja comparativa que le permite abastecer los mercados internacionales en periodos de baja oferta y optar así a mejores precios del producto (Labra *et al.*, 2004), la cereza al ser una fruta altamente perecible en algunos casos no cumple con las expectativas óptimas de calidad esperada por el consumidor después del transporte y distribución (Manganaris *et al.*, 2007).

3.2 Características de las cerezas

La cereza (*Prunus avium* L.) es un fruto que está compuesto de tres partes: la piel o epicarpio, la parte comestible o mesocarpio y el endocarpio que encierra la semilla (Naderiboldaji *et al.*, 2008).

La cereza es un fruto no climatérico (Horvitz *et al.*, 2004), es decir, la tasa de respiración no se incrementa hacia la madurez del fruto y por ende, el fruto no puede continuar su madurez una vez cosechado, y es a su vez un fruto reconocidamente

muy perecible (Grau, 2007). El color de la piel es el principal indicador de madurez en las cerezas (Pérez *et al.*, 2010) y depende del contenido de antocianinas (Vursavus *et al.*, 2006).

Las cerezas son altamente apreciadas por los consumidores y su aceptación está principalmente basada en el color de la piel, contenido de sólidos solubles, acidez, ausencia de pardeamiento en el pedicelo, frescura y apariencia global, sin embargo, al ser una fruta altamente perecible en algunos casos no cumple con las expectativas óptimas de calidad esperada por el consumidor después del transporte y distribución (Manganaris *et al.*, 2007).

Dado el pequeño tamaño del fruto, se presenta una alta relación superficie/volumen, ello implica que el área superficial de piel expuesta al medio es muy alta en relación al volumen total del fruto, esto lo hace ser extremadamente sensible a los daños especialmente por impacto y compresión (Grau, 2007). El daño mecánico puede ocurrir durante la cosecha, transporte al packing, embalaje o transporte al mercado (Thompson *et al.*, 1997; Kabas y Ozmerzi, 2008).

3.3 Descripción de las características anatómicas de la cereza

La descripción anatómica de cerezas de los cultivares Ron's Seedling y St. Margaret realizada por Wade y Bain (1980) es similar a la descripción de los tejidos de guinda (*Prunus cerasus* L. var. Montmorency) realizada por Tukey y Young (1939).

La estructura anatómica de este fruto comprende una primera capa celular llamada epidermis, la cual consiste en una única fila de células, cubierta externamente por una cutícula que es continua excepto donde es interrumpida por estomas; las células de la epidermis se caracterizan por su tamaño alargado en la dirección tangencial. Luego, se encuentra la hipodermis, que está formada por alrededor de cuatro capas de pequeñas células con paredes ligeramente engrosadas. La epidermis y la capa hipodermal constituyen la piel del fruto (Tukey y Young, 1939). Más al interior se encuentra el mesocarpo carnoso, el cual se encuentra formado por hasta diez capas de grandes células parenquimáticas redondeadas, ubicadas entre la hipodermis y el anillo de tejido vascular; y por células radialmente elongadas, circundando el endocarpo.

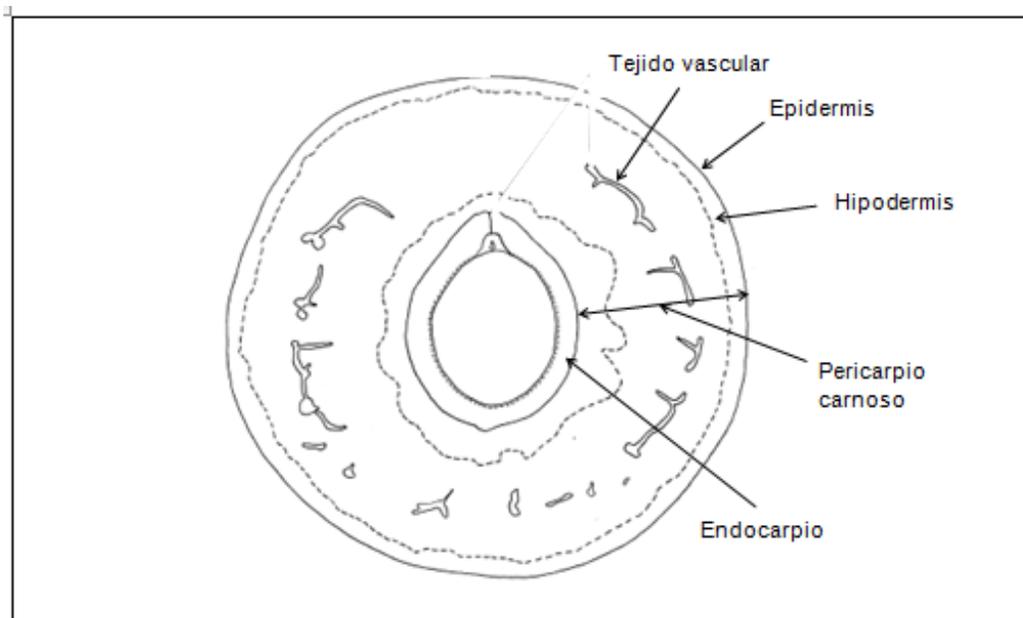


Figura 1. Corte transversal de fruto de guinda, indicando cada una de sus partes (Adaptado de Tukey y Young, 1939).

Yamaguchi *et al.* (2002) concluyen que las dimensiones de las células epidérmicas dependen del cultivar de cereza estudiado, además no todas las células epidérmicas tienen la misma dimensión variando en función de la posición, encontrándose pequeñas células en el ápice de la fruta y grandes células en la zona ecuatorial. Además, se informa que células de la piel que presentan un menor tamaño tienen un potencial mayor de extensibilidad, haciéndolas a su vez más elásticas.

3.4 Depresión superficial (pitting)

El pitting es resultado de impactos con pedicelos de otras cerezas o con superficies duras, en las que las fuerzas de impacto están concentradas en pequeñas áreas de la superficie de la fruta (Grant y Thompson, 1997). La incidencia de pitting limita la vida útil en cerezas (Alique *et al.*, 2005) por inducir un rápido ablandamiento y reducir la aceptación del consumidor (Crisosto *et al.*, 1994).

Esta lesión aparece como una o más depresiones irregulares en la superficie de la fruta. Las depresiones pueden ocurrir en cualquier parte de la cereza, pero generalmente aparecen sobre los hombros (Wade y Bain, 1980) o los costados de la fruta. Ellas varían en tamaño entre 4 a 8 mm o más de amplitud (Porritt *et al.*, 1971).

El pitting puede ocurrir dentro de un día bajo condiciones donde existe pérdida de agua y la tasa metabólica es alta, o puede tomar semanas si las cerezas se han mantenido a baja temperatura (Patten *et al.*, 1983).

3.5 Factores que influyen en la susceptibilidad al pitting

Según Thompson *et al.* (1997) una baja concentración de sólidos solubles, baja temperatura y masa de la fruta estarían asociadas con la susceptibilidad al daño mecánico en cereza.

Crisosto *et al.* (1994) estableció una relación entre la incidencia del pitting y la temperatura. Al hacer un estudio en cerezas Brooks encontró que el pitting fue mayor cuando la temperatura de la pulpa estaba cercana a 1°C, intermedia cerca de 10°C y más baja cerca de 20°C. Por esta razón, las cerezas deberían ser manipuladas entre 10 y 20°C para minimizar el daño. Por otro lado, debido al incremento de la tasa de respiración a altas temperaturas, las cerezas deberían ser enfriadas a 0°C dentro de las 4 a 6 horas después de cosechadas.

La firmeza podría afectar la susceptibilidad que presentan las frutas al daño mecánico (Clayton *et al.*, 1998). Cultivares que maduran más tarde y aquellos con mayor concentración de sólidos solubles tuvieron menor pitting (Kappel *et al.*, 2006)

De igual forma varias investigaciones indican que la susceptibilidad al pitting depende del cultivar (Candan *et al.*, 2014; Crisosto *et al.*, 1993; Kappel y Toivonen, 2005), es importante determinar la susceptibilidad al pitting que presentan distintos cultivares en un área geográfica determinada ya que esta puede influir en su comportamiento. A modo de ejemplo, existe información de que el cultivar Sweetheart se caracteriza por ser altamente susceptible tanto en Estados Unidos como Chile, sin embargo, estudios realizados en Canadá (Kappel *et al.*, 2006) lo catalogan como de alta resistencia.

Si bien existe información en relación a la resistencia al pitting que presentan distintos cultivares, no se ha aclarado certeramente porque ocurren estas diferencias. Kappel y Toivonen (2005) dan a conocer que los distintos cultivares difieren en su susceptibilidad al pitting pero no especifican la susceptibilidad de cada cultivar en

particular, así como tampoco las razones de ello. En este sentido Kappel y Toivonen (2005) sugieren en su trabajo qué cultivares pueden ser seleccionados en relación a su resistencia al daño por pitting, entre lo que se puede mencionar que el cultivar Bing es más susceptible al pitting que Lapins y Sweetheart.

En un estudio realizado por Toivonen *et al.* (2004) se encontró que el pitting parece estar asociado a varios factores fisiológicos, siendo algunos factores más importantes para algunos cultivares que para otros. Por ejemplo, la pérdida de agua resulta ser un buen predictor de la susceptibilidad al pitting en el cultivar Bing, pero no lo es en Lapins o Sweetheart. Sin embargo, al analizar respiración y firmeza del fruto, el comportamiento es similar en los tres cultivares.

3.6 Descripción del daño a nivel histológico

Según los resultados obtenidos por Porritt *et al.* (1971), en las secciones histológicas de áreas con pitting se observó una zona de tejido lesionado usualmente de 6 a 8 células por debajo de la depresión epidermal, encontrándose fuera del anillo de elementos vasculares, es decir, que la lesión se produce en las capas celulares por sobre el tejido vascular, no afectando a este último.

La lesión contiene paredes celulares colapsadas y material pigmentado marrón. La epidermis y la hipodermis han colapsado en el espacio vacío de la lesión necrótica, causando el pitting. Las células del parénquima entre la hipodermis y la lesión son anatómicamente normales, aunque desplazadas hacia el interior. Las lesiones necróticas siempre aparecen fuera del anillo de tejido vascular, aunque en proximidad a él (Wade y Bain, 1980).

3.6.1 Viabilidad celular

Se plantea el reconocimiento de viabilidad celular, como metodología para identificar el área celular dañada por pitting.

Esta metodología se basa en el uso de diacetato de fluoresceína (FDA), compuesto que es permeable a las membranas celulares en su estado nativo, y después que el compuesto ingresa al citoplasma las esterasas celulares escinden el grupo diacetato, generando un producto altamente fluorescente (Heslop-Harrison y Heslop-Harrison,

1970). Para células vegetales altamente vacuoladas, tales como aquellas típicas de frutas, si las esterasas citoplasmáticas activas están presentes y las membranas de la célula y vacuola son funcionales, entonces la fluoresceína debería ser atrapada en el citoplasma y permitir que las células sean visualizadas como una zona brillante continua adyacente a la pared celular. Por esta razón la acumulación de fluoresceína en el citoplasma es una medida de 2 procesos independientes, la integridad de la membrana y la presencia de esterasas activas, lo que se convierte en una herramienta poderosa que permite determinar la presencia de viabilidad celular (Krasnow *et al.*, 2008).

3.7 Cambios originados en el color y textura

Las magulladuras de los frutos es el daño producido en sus tejidos por fuerzas externas causantes de una variación física de la textura, que lleva acompañado alteraciones químicas del color. Gran parte de las lesiones producidas por cargas mecánicas, son ocasionadas por fenómenos de compresión e impacto. Es necesario caracterizar el ablandamiento y cambio de color producido en los tejidos coloreados.

El cambio de color producido es debido, fundamentalmente, a pardeamiento, resultado de la reacción de oxidación de los compuestos fenólicos llevada a cabo por el grupo de enzimas polifenoloxidasas y peroxidasas, el que toma lugar cuando el plasmalema se rompe. Los fenoles se transforman en quinonas, que son inestables y se polimerizan en compuestos melánicos de alto peso molecular, de color generalmente pardo. La intensidad de la reacción de coloración depende de factores como: la concentración de fenoles, la actividad de las enzimas polifenoloxidasas, el pH del fruto, la disponibilidad de oxígeno, la temperatura y el tiempo transcurrido tras lesionar el tejido. En el estudio realizado por Rebolledo (2011) se evaluó el cambio de color en el tejido producto del daño ocasionado por impacto, éste fue fácil de observar ya que se trabajó con cerezas de la variedad Rainier que se caracterizan por tener la pulpa de color blanco. Sin embargo, al trabajar con cerezas de pulpa oscura se dificulta la visualización de colores pardos en el tejido, debido a que el pigmento antocianina que es responsable del color rojo, enmascara el pardeamiento del tejido dañado, por lo tanto, la lesión pasa desapercibida hasta que el tejido

colapsa y se desarrollan las depresiones (Patten *et al.*, 1983). Por esto se hace necesario recurrir a metodología más avanzada como es el caso de microscopía de fluorescencia (Krasnow *et al.*, 2008) y el uso de microscopio electrónico de transmisión, llegando incluso a analizar el interior de la célula permitiendo observar el daño ocurrido a nivel intracelular. El microscopio electrónico de transmisión (TEM) es la técnica principal utilizada para el estudio ultraestructural de paredes celulares (Kirby *et al.*, 1996).

3.8 Características mecánicas del tejido

La firmeza ha sido implicada como un factor importante en la determinación de la susceptibilidad al pitting. La firmeza es también un indicador de la estructura de la pared celular y es considerada ser importante describiendo la respuesta del tejido a fuerzas mecánicas. Además la firmeza fue considerada ser un factor fisiológico con potencial para ser un buen predictor de la susceptibilidad al pitting (Toivonen *et al.*, 2004).

Varios factores contribuyen a la textura global de las frutas, tal como la rigidez de la pared celular, la adhesión entre células, el turgor de la célula y la anatomía del tejido. La firmeza de la cereza depende del grado de polimerización de las cadenas de pectina en la pared celular, la pérdida de firmeza está asociada con la actividad enzimática de poligalacturonasas, polimetilesterasas y celulasas que actúan degradando la lámina media y la pared celular primaria. Otra importante componente en la firmeza de la pulpa es la presión de turgor interna (Sekse *et al.*, 2009).

La elasticidad, resistencia y rigidez de los tejidos vegetales son debido a las propiedades reológicas de la pared celular. Mientras la elasticidad de las paredes celulares es reconocida como el principal factor responsable de la elasticidad de los tejidos, el jugo celular es responsable de ejercer una presión denominada presión de turgencia en las paredes de las células y mantenerlas en un estado de tensión elástica (Mohsenin, 1986).

La medida de la textura de los alimentos se reduce a la determinación de su resistencia a una fuerza. La firmeza de la cereza se puede caracterizar en función de la fuerza de ruptura, es decir, cuál es la fuerza máxima que soportará el tejido antes

de romperse. Otro parámetro importante que permite caracterizar un tejido es el módulo de elasticidad, el cual indica que tan elástico es un producto, es decir, cuanto es capaz de deformarse ante la aplicación de una fuerza antes de llegar al rompimiento. El módulo de elasticidad es uno de los índices utilizados para definir la resistencia mecánica de materiales biológicos y se basa en la teoría de contacto de Hertz, la cual ha sido utilizada para describir la deformación de las frutas (Mohsenin, 1986).



4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Material vegetal

Para la primera parte del estudio las cerezas de todos los cultivares fueron cosechadas en el mes de diciembre de 2012 en el Fundo San Juan ubicado en el sector Miraflores, Chillán, provincia de Ñuble, Región del Biobío, con el fin de tener una fuente de procedencia homogénea. El huerto está ubicado en las coordenadas 36°40' S y 71°50' O a 325 msnm, posee un clima de tipo mediterráneo y un suelo con características de trumao.

Los cultivares utilizados para realizar el estudio fueron Lapins en portainjerto Santa Lucía y Kordia, Regina y Sweetheart en portainjerto Colt, todos fueron cosechados en un estado de madurez comercial.

En la segunda parte del estudio se utilizó fruta cosechada de un huerto de WalnutGrove, ubicado al noroeste de la ciudad de Sacramento, California USA, durante mayo de 2013. El cultivar seleccionado fue Sweetheart en portainjerto Gisela 6, en dos estados de madurez, rojo y rojo oscuro.

Estudio 1: Susceptibilidad al pitting de distintos cultivares de la zona sur de Chile y análisis de características físico-químicas, mecánicas e histológicas.

4.2 Caracterización de los cultivares

4.2.1 Características físico-químicas

Se determinó el contenido de sólidos solubles, pH, porcentaje de humedad y acidez titulable, con el fin de caracterizar físico-químicamente cada cultivar. Para llevar a cabo estas mediciones se utilizaron muestras de 10 frutos elegidos aleatoriamente, realizándose las mediciones en triplicado. Para la preparación de las muestras se procedió a sacar un trozo de cada uno de los frutos que contemplaba la repetición, para ser utilizado en la determinación del contenido de humedad. El resto de los frutos fueron cortados, molidos y mezclados de forma homogénea, de esta mezcla se realizaron las mediciones restantes.

El pH se midió con un pH-metro (Hilab Innovation Systems, PHS-38W), el contenido de sólidos solubles con un refractómetro termo compensado (Hanna, HI 96801), el contenido de humedad se midió colocando las muestras en estufa a 70°C por 48 horas y determinada mediante diferencia de peso. La acidez titulable se midió mediante titulación con NaOH 0,1 N, registrándose el gasto de NaOH necesario para alcanzar un pH 8,2; calculándose posteriormente el respectivo porcentaje de acidez expresado como ácido málico.

4.2.2 Propiedades mecánicas del tejido

La medición de las propiedades mecánicas se realizó el día 0 del estudio. Se llevó a cabo en 10 frutos de cada cultivar, utilizando para ello la Máquina de Pruebas Universal Instron (Modelo 4465, InstronCorp, CantonEngland), con un vástago de 3,0 mm de diámetro y velocidad de bajada de 10 mm min⁻¹ que entrega la curva de fuerza v/s desplazamiento (Figura 2).

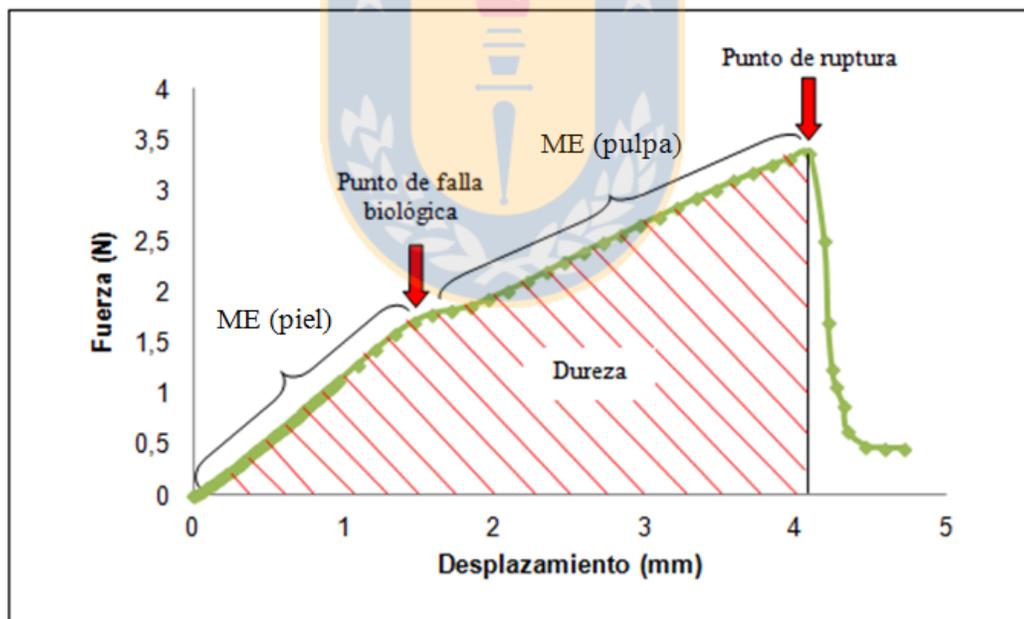


Figura 2. Modelo de curva fuerza v/s desplazamiento, indicando cada uno de los parámetros medidos utilizados en la caracterización de los cultivares evaluados. ME: Módulo de Elasticidad.

La medición de las propiedades mecánicas del tejido se realizó mediante el método de punción ya que según la información expuesta por Mitcham *et al.* (1998) es el

método que entrega una mejor percepción de la firmeza total en cerezas. En la *Figura 2*, se observan los parámetros de la curva fuerza v/s desplazamiento que fueron utilizados para caracterizar cada cultivar. El cambio de pendiente en la primera linealización indica un rompimiento en el epicarpio de la cereza, mientras que la segunda linealización indica el rompimiento del mesocarpio del fruto (ASAE, 2000).

La determinación del Módulo de Elasticidad (ME) en la primera linealización fue determinado a través de la Ec. 1, considerando un proceso de compresión basada en la teoría de contacto de Hertz. Mientras que para la segunda linealización donde se produce la penetración de la pulpa se utilizó la Ec. 2, la cual se basa en la teoría de Boussinesq (Mohsenin, 1986).

$$E = \frac{0,338 K^{3/2} F (1 - \mu^2)}{D^{3/2}} \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R'_1} + \frac{4}{d} \right)^{1/2} \quad (\text{Ec.1})$$

$$E = \frac{\Delta F (1 - \mu^2)}{\Delta D 2a} \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde E corresponde al Módulo de Elasticidad, K es una constante (en este caso es 1,351), F es la fuerza, D es la deformación, μ es el coeficiente de Poisson (se utilizó un valor de 0,5), R_1 y R'_1 radio de curvatura del fruto, $2a = d$ diámetro del émbolo.

4.2.3 Características histológicas

A partir de 5 frutos de cada cultivar se obtuvieron secciones de aproximadamente 5 x 5 mm provenientes del sector de los hombros de la cereza, cada sección fue posteriormente fijada en FAA (formaldehido 10%, ácido acético 5%, alcohol 50% y agua 35%) para luego ser deshidratada en alcohol, clarificada con benzol e infiltrada en parafina. Posteriormente se realizaron cortes con micrótomos de 12 μm de espesor y se tiñeron con safranina (Porrit *et al.*, 1971).

Los cortes fueron observados con un microscopio óptico (Axiostar, Carl Zeiss, Alemania), obteniéndose fotografías con aumento 10x. Se observó y analizó el tejido

sano de cada uno de los cultivares bajo estudio el día 0, para establecer diferencias histológicas entre éstos. Posteriormente mediante el análisis de imágenes (Image J, versión 2013, NIH, USA) se realizó la medición de espesor de cutícula, epidermis e hipodermis (*Figura 3*), además de determinar área y longitud periclinal y anticlinal de células de la epidermis, hipodermis y mesocarpo, y conteo de capas de la hipodermis. Para la medición de parámetros histológicos se utilizaron 3 repeticiones de cada cultivar, analizándose a su vez 3 cortes de cada repetición; en cada corte se midió en tres partes distintas el espesor de cada una de las capas celulares analizadas, la determinación de área y longitudes anticlinal y periclinal se realizó en tres células individuales de la epidermis e hipodermis, en el caso del mesocarpo se midieron tres células de cada tamaño ("*grande*", "*mediano*" y "*pequeño*"), ya que no existía uniformidad en el tamaño de las células del tejido.

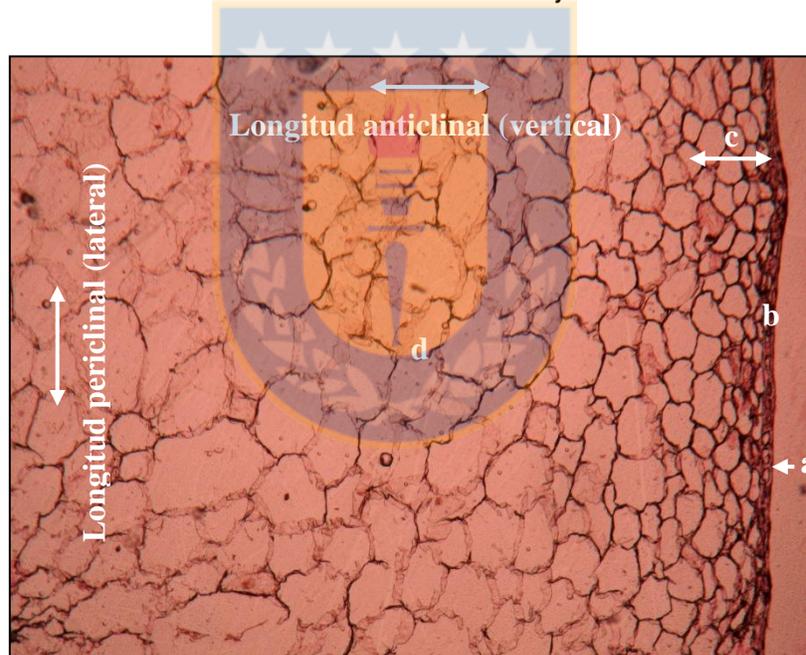


Figura 3. Sección de tejido sano de cereza indicando los parámetros histológicos utilizados para la caracterización de los cultivares. Además se indica la orientación de las longitudes periclinal y anticlinal utilizadas en la medición de células individuales.

a. Cutícula b. Epidermis c. Hipodermis d. Mesocarpo

4.3 Análisis de daño por pitting

4.3.1 Pitting comercial

Para evaluar el pitting comercial se recurrió a la metodología usada por Torrealba (2005), que consiste en realizar una inspección visual del daño por pitting originado naturalmente en la superficie, en los cultivares Lapins, Regina y Sweetheart. Este daño fue evaluado los días 0, 7, 14 y 21, cada día se determinó el Índice de Pitting (IP), para lo cual se utilizó la siguiente fórmula:

$$IP = \frac{Say \times 0 + Ly \times 1 + My \times 2 + Sey \times 3}{50} \quad (\text{Ec. 3})$$

Esta medición se realizó en triplicado, constando cada réplica de 50 frutos. La escala visual es la siguiente:

- (Sa) Sano: Sin daño
- (L) Leve: ≤ 3 depresiones con diámetro $< 1\text{mm}$
- (M) Moderado: ≤ 2 depresiones con diámetro $< 3\text{mm}$
- (Se) Severo: Todo lo superior a lo ya expuesto.

Donde Say, Ly, My, Sey, corresponde al número de unidades de cereza pertenecientes a fruta sana, con daño leve, moderado y severo, respectivamente.

4.3.2 Pitting inducido

El pitting en las cerezas de cada cultivar fue inducido por el impacto de un péndulo (*Figura 4*) dejado caer desde un ángulo de 90° , el cual genera una energía de impacto de $0,0107\text{ J}$ sobre el fruto. La zona de impacto correspondió a los hombros de la fruta. Las muestras bajo estudio fueron almacenadas en cámara refrigerada a una temperatura de 3°C .



Figura 4. Dispositivo utilizado para originar el daño por impacto en cerezas, cuya energía de impacto al ser dejado caer desde un ángulo de 90° es de 0,0107 J.

En cada cultivar se evaluó la evolución del pitting mediante impresiones de alginato cromático (gel-plusegeo, Argentina) (Toivonen *et al.*, 2004), las cuales fueron guardadas en frascos tapados y almacenados en cámara de refrigeración a 3 °C hasta el momento de su análisis. Las impresiones fueron tomadas los días 0, 7, 14 y 21, utilizando para ello 5 frutos de cada cultivar. Estas impresiones posteriormente fueron seccionadas a través del centro del área dañada, observadas a través de microscopio óptico (Axiostar, Carl Zeiss, Alemania), y mediante un equipo fotográfico (Powershot A620, Cannon, China) acoplado a dicho microscopio se obtuvieron imágenes digitales. El análisis de los mismos mediante el software Image J © versión 2013 (NIH, USA) permitió realizar la caracterización del daño originado por el pitting, a través de la medición del diámetro, profundidad y área de la depresión originada.

Estudio 2: Análisis de daño por pitting a nivel celular y superficial, y su relación con la firmeza inicial del fruto y estado de madurez.

4.4 Determinación de firmeza del fruto

A cada uno de los frutos se les determinó la firmeza mediante dispositivo Firmtech®, ésta fue medida en ambos hombros del fruto y se obtuvo el valor promedio.

La firmeza fue medida en 270 frutos de cada estado de madurez, rojo y rojo oscuro. Una vez obtenidos los valores de firmeza, éstos se ordenaron en forma descendente y se formaron 3 grupos de 90 frutos cada uno, correspondientes a las categorías alta, media y baja.

4.5 Determinación de daño por pitting a nivel celular y superficial

Se seleccionaron frutos en estado de madurez rojo, elegidos aleatoriamente a partir de los 50 frutos centrales de cada categoría de firmeza. A la fruta se le indujo pitting por impacto mediante la caída de un péndulo de características similares al indicado en 4.3.2. construido en la Universidad de California-Davis, con ángulos de 45°, 65° y 85°; lo que origina una energía de 1,2 mJ, 2,3 mJ y 3,7 mJ, respectivamente. La zona de impacto correspondió a los hombros del fruto. El pitting fue medido los días 0 (1 hora luego del impacto), 4 y 7; tanto a nivel superficial como a nivel celular. Se utilizaron 5 repeticiones por tratamiento.

El análisis del pitting a nivel interno se centró en la detección de células viables, para esto se usó la metodología usada por Krasnow *et al.* (2008) que se basa en la utilización de una solución de diacetato de fluoresceína (FDA) 4,8 µM en acetona. La solución de tinción es hecha por adición de 2 µL de solución FDA a 1 mL de solución de azúcar balanceada a aproximadamente la misma osmolaridad que las cerezas. Dentro los 10 minutos de preparada la solución en sacarosa, se colocaron 2 gotas sobre la superficie de observación, y luego de unos minutos para permitir la absorción de la solución colorante, se procedió a la observación mediante microscopía de fluorescencia. Se tomaron fotografías digitales las que fueron analizadas en este trabajo. El análisis de las áreas fluorescentes y no fluorescentes presentes en el tejido celular fue realizado con el software Image J®.

El pitting a nivel externo se cuantificó mediante la metodología de la obtención de impresiones, descrita anteriormente en la sección 4.3.2. Esta medición se realizó en

los mismos frutos a los cuales se les determinó el daño a nivel celular, para luego realizar el análisis de correlación entre ambas variables.

4.6 Análisis de la influencia del estado de madurez sobre daño por pitting

A frutos en los estados de madurez rojo y rojo oscuro se les indujo el impacto mediante un péndulo dejado caer desde un ángulo de 65° (2,3 mJ). Para ello se utilizaron 19 frutos del extremo superior e inferior de cada categoría de firmeza (alta, media y baja).

Se midió el nivel de daño superficial el día 11, mediante la metodología descrita previamente. Esta evaluación se realizó en 114 frutos de cada estado de madurez

4.7 Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Se utilizó como unidad experimental en el caso de la caracterización físico-química 10 frutos y para las demás evaluaciones 1 fruto. Se utilizaron 3 repeticiones en la caracterización físico-química, histológica y en la evaluación del pitting comercial, mientras que en la medición de las propiedades mecánicas se realizaron 10 repeticiones, en tanto que la evaluación de la evolución del pitting inducido se llevó a cabo con 5 réplicas. Para la caracterización de cada uno de los cultivares se utilizó un diseño completamente aleatorio que tiene como factor el tipo de cultivar. Para evaluar el efecto del estado de madurez sobre la incidencia de pitting también se utilizó un diseño completamente aleatorio. Mientras que para la severidad y evolución del pitting se utilizó un diseño factorial 4x4, donde los factores analizados fueron cultivar y tiempo de almacenamiento. Para el análisis del daño a nivel interno como externo en el cultivar Sweetheart se utilizó un diseño factorial 3x3, donde los factores analizados fueron energía de impacto y tiempo de almacenamiento. Los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza y posteriormente al test de comparaciones múltiples de Tukey (95%). Además, se analizó la relación entre daño interno y externo, y la relación de éstos con la firmeza del fruto, para esto se recurrió a un análisis de correlación mediante el coeficiente de Pearson. Los datos fueron analizados mediante el software estadístico Infostat © versión 2013 (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio 1

5.1 Pitting inducido

El análisis de la evolución del pitting, en el caso de las 3 variables evaluadas (diámetro, profundidad y área) dio como resultado que la relación entre cultivar y tiempo de almacenamiento fue significativa, lo que se representa gráficamente al observar el entrecruzamiento de las líneas (Figura 5).

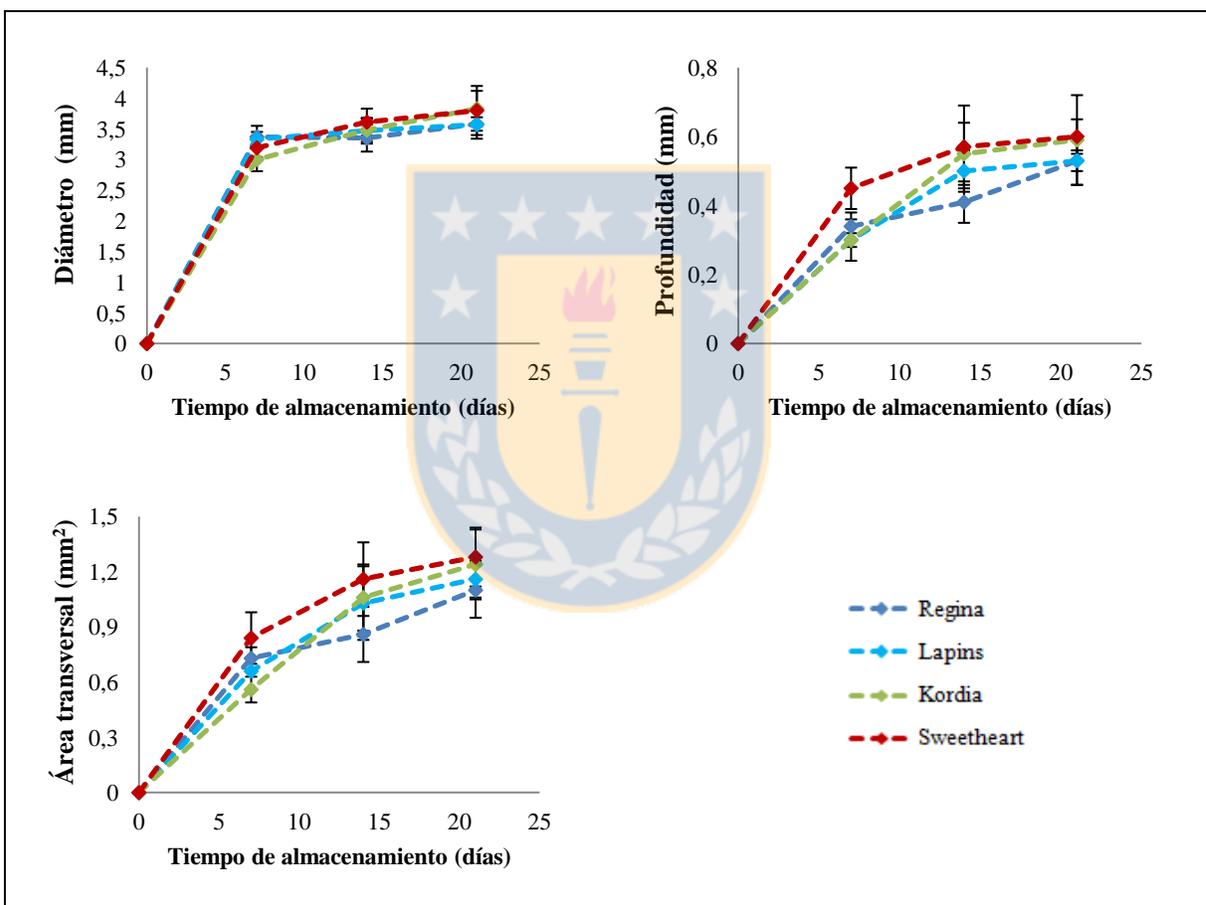


Figura 5. Evolución del pitting durante el almacenamiento refrigerado (3°C) en los distintos cultivares.

El cultivar Regina es el que se ve menormente afectado por el pitting, en el lado opuesto se tiene a Sweetheart, en tanto Lapins y Kordia presentan un daño intermedio. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Candan *et al.* (2014) y

Kappel *et al.* (2002) que concluyeron que la sensibilidad al pitting depende del cultivar. Einhorn *et al.* (2013) sugieren que hay una clara interacción entre genotipo y medioambiente, la que influenciaría directamente el daño por pitting.

En relación a la evolución del pitting inducido, en la manifestación del daño externo, se tiene que el día 0 no es posible visualizar el daño, el que si es evidente a partir del día 7, la severidad del daño aumenta a medida que transcurren los días de almacenamiento (Lidster y Tung, 1980).

5.2 Pitting comercial

Para la evaluación del pitting comercial, basado en el análisis de daño natural presente en los frutos, se realizó un análisis de varianza el que determinó que la relación entre los factores tiempo de almacenamiento y cultivar resultó significativa ($p < 0,05$). En la *Figura 6*, se presenta el comportamiento del Índice de Pitting (IP) en los distintos cultivares de cereza analizados durante 4 fechas de evaluación.

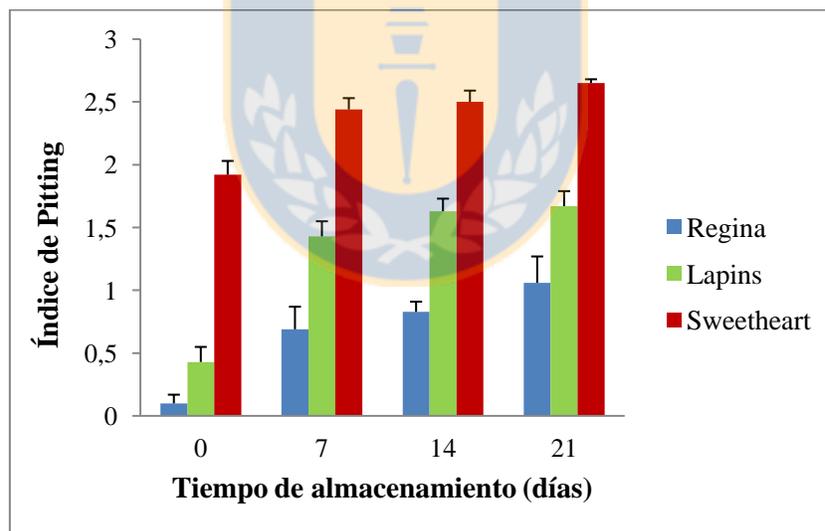


Figura 6. Evaluación del pitting comercial, expresado como Índice de pitting (IP), en los distintos cultivares estudiados durante el tiempo de almacenamiento.

A medida que avanza el período de almacenamiento se experimenta un aumento en el IP, la diferencia más notoria se experimenta en la primera semana de evaluación. Es evidente la diferencia que se presenta entre los distintos cultivares, donde Regina presenta el menor IP mientras que Sweetheart se ve mayormente afectada, en tanto

el cultivar Lapins presenta una susceptibilidad media, lo que coincide con los resultados obtenidos de la evaluación del daño inducido.

5.3 Caracterización físico-química de cerezas recién cosechadas

En relación a las características físico-químicas se puede observar en la *Tabla 1*, que los distintos cultivares difieren estadísticamente entre sí.

Tabla 1. Diferencias en las características fisicoquímicas entre los 4 cultivares bajo estudio.

Característica	Regina	Lapins	Kordia	Sweetheart
Sólidos solubles (°Brix)	16,87 ^a	17,00 ^a	22,00 ^b	17,53 ^a
Humedad (%)	82,50 ^b	82,97 ^b	76,56 ^a	80,70 ^b
pH	3,71 ^b	3,71 ^b	3,70 ^b	3,45 ^a
Acidez (%)	0,61 ^a	0,65 ^a	0,66 ^a	0,78 ^b

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey ($p \leq 0,05$).

El cultivar Kordia presenta un contenido de sólidos solubles significativamente superior a la vez que presenta el menor contenido de humedad. Basados en la información entregada por Candan (2006) esto indicaría que el cultivar Kordia se encontraba en un estado de madurez más avanzado, lo cual concuerda con la clasificación por color de la fruta en estado caoba, ya que el contenido de sólidos solubles está directamente relacionado con el color de la fruta (Muskovics *et al.*, 2006). En el caso de pH y acidez, Sweetheart es el cultivar que presenta características significativamente distintas a los demás, con una mayor acidez y un menor pH. Las diferencias encontradas en las características físico-químicas de los cultivares estudiados, coinciden con los resultados obtenidos por Sîrbu *et al.* (2012) que determinaron que las propiedades físico-químicas eran características de cada cultivar.

Se plantea que las propiedades físico-químicas además de depender del cultivar, varían según el tipo de cultivo y el año de cosecha. Kappel *et al.* (2006) indica que aquellos cultivares más tardíos y aquellos que presentan mayor concentración de sólidos solubles presentan menor daño por pitting. Esto no se pudo comprobar en

este estudio, ya que todos los cultivares estudiados se caracterizan por ser tardíos o semitardíos (Ellena *et al.*, 2006), Sweetheart es el cultivar que madura más tarde sin embargo fue el que se vio mayormente afectado por pitting. En relación al contenido de sólidos solubles, Kordia presentó el mayor contenido (22 °Brix) y presentó un nivel de daño intermedio, en cambio Regina que fue el cultivar menos afectado por el daño no presentó diferencias significativas con Sweetheart (*Tabla 1*) en su concentración de sólidos solubles.

5.4 Propiedades mecánicas del tejido

El punto de falla biológica (*Tabla 2*), que indica la ruptura de la piel del fruto, no difiere entre los cultivares. En tanto el punto de ruptura, asociado a la resistencia de la pulpa, establece que el cultivar Sweetheart presenta un valor significativamente mayor al de Lapins, en tanto que Regina y Kordia que se encuentran en un rango intermedio no se diferencian estadísticamente de ninguno de ellos.

Tabla 2. Diferencias en las propiedades mecánicas del tejido entre los 4 cultivares bajo estudio. (ME: módulo de elasticidad)

Característica	Regina	Lapins	Kordia	Sweetheart
Punto de falla biológica (N)	2,24 ^a	1,84 ^a	1,89 ^a	2,46 ^a
Punto de ruptura (N)	4,84 ^{ab}	3,65 ^a	4,75 ^{ab}	4,96 ^b
ME piel (MPa)	0,54 ^a	0,46 ^a	0,57 ^a	0,64 ^b
ME pulpa (MPa)	0,25 ^b	0,17 ^a	0,28 ^b	0,27 ^b
Dureza (N mm)	10,41 ^a	7,93 ^a	9,37 ^a	9,59 ^a

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey ($p \leq 0,05$).

El módulo de elasticidad asociado a la primera linealización de la curva fuerza v/s desplazamiento que indica la elasticidad de la piel (ASAE, 2000) muestra que el cultivar Sweetheart es el menos elástico, al tener una piel menos elástica una vez que se origina el impacto ésta tiene una menor capacidad de deformación por lo cual podría explicarse que este cultivar se vea mayormente afectado, los demás cultivares no presentan diferencias. Lapins presenta la mayor elasticidad de pulpa, lo que análogamente a lo previamente expuesto podría explicar porque este cultivar

presenta una susceptibilidad intermedia, en tanto no existen diferencias entre los demás cultivares. En relación a la dureza del fruto no existen diferencias significativas entre los cultivares. Toivonen *et al.* (2004) sugieren que si bien la firmeza está relacionada con la susceptibilidad al pitting ésta sólo sería un determinante parcial.

5.5 Caracterización histológica

En relación a las características histológicas analizadas (*Tabla 3*) se encontró diferencias entre los cultivares (*Figura 7*) las que se presentan principalmente a nivel de las capas superiores, cutícula y epidermis. La primera diferencia se establece en el espesor de la cutícula, donde Sweetheart presenta un valor significativamente mayor al que presenta Regina y Kordia, mientras que Lapins no presenta diferencias con ninguna de las anteriores esto puede relacionarse con el pitting ya que según Sekse (1995) la cutícula de la cereza es rígida, por lo que a mayor espesor mayor es la rigidez de esta barrera, con lo que disminuye la capacidad de deformación frente al daño mecánico. El espesor de la epidermis varía entre 16,94 y 23,96 μm , siendo Sweetheart el cultivar que presenta un valor significativamente mayor a Kordia y Regina sin presentar diferencias con Lapins. Estos resultados concuerdan en parte con los obtenidos por Demirsoy y Demirsoy (2004), ya que ellos si bien establecieron diferencias en torno al espesor de la cutícula no detectaron diferencias en el espesor de la epidermis de los cultivares estudiados.

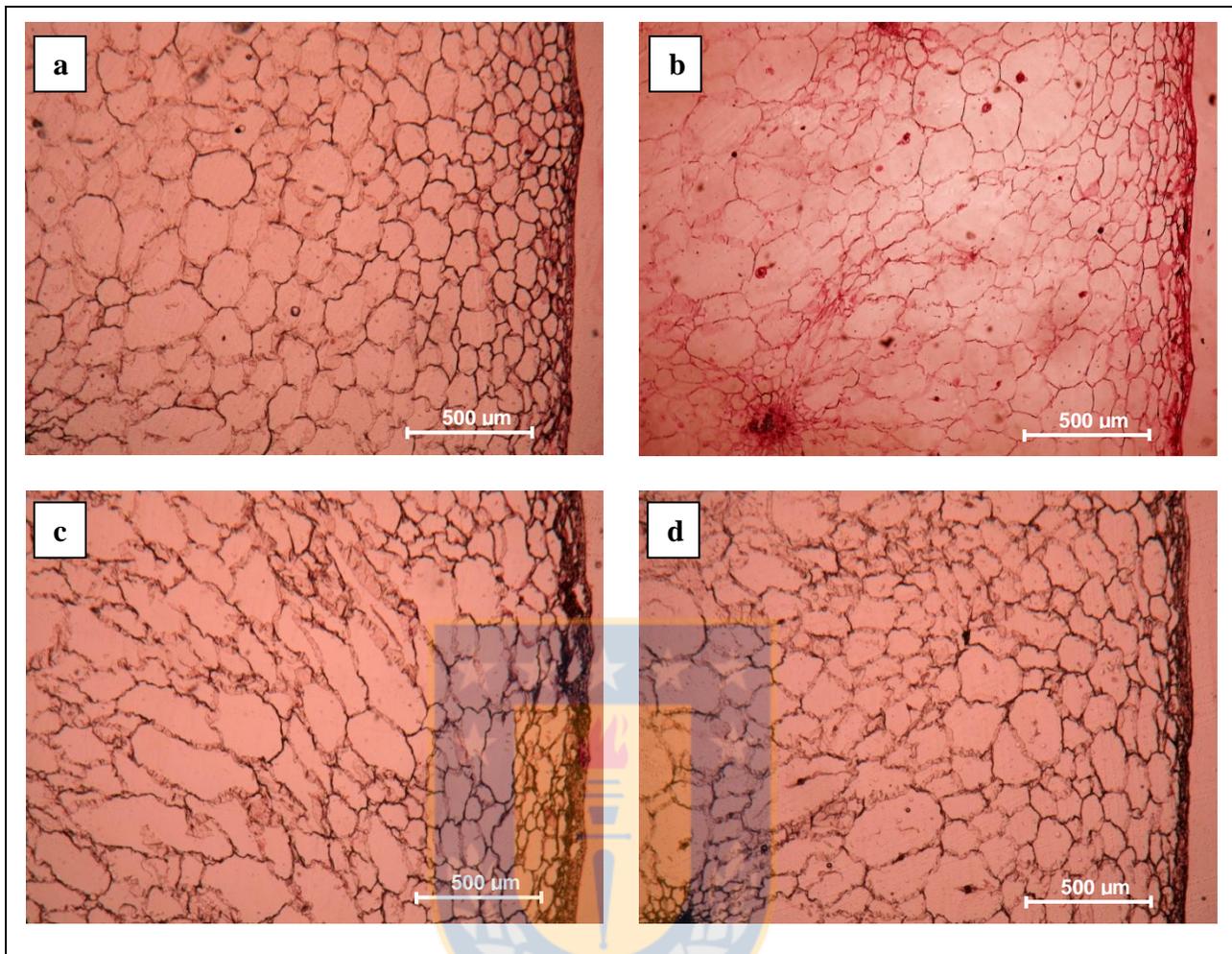


Figura 7. Sección de tejido sano de cultivares evaluados. (a) Sweetheart, (b) Regina, (c) Kordia y (d) Lapins.

En relación al tamaño de las células epidérmicas se encontró que el cultivar Sweetheart presenta un tamaño significativamente mayor al que presentan los demás cultivares, tanto en relación a su área y longitud periclinal y anticlinal. Con respecto a lo anterior Yamaguchi *et al.* (2002) indican que las células de la piel de la cereza que presentan un menor tamaño tienen un potencial mayor de extensibilidad, haciéndolas a su vez más elásticas, Sweetheart al presentar células epidérmicas más grandes presentaría una elasticidad menor y por tanto una menor capacidad de deformación por lo que al recibir un impacto este lo afecta mayormente, manifestando un pitting mayor; lo anteriormente expuesto concuerda con el valor del módulo de elasticidad (piel).

Tabla 3. Características histológicas de los 4 cultivares bajo estudio.

Característica	Regina	Lapins	Kordia	Sweetheart
Espesor cutícula (μm)	2,50 ^a	3,22 ^{ab}	2,53 ^a	3,44 ^b
Espesor Epidermis (μm)	17,21 ^a	18,96 ^{ab}	16,94 ^a	23,96 ^b
Espesor Hipodermis (μm)	110,16 ^b	141,95 ^c	78,73 ^a	133,92 ^{bc}
NCH	3,89 ^a	4 ^a	3,67 ^a	3,40 ^a
LPE (μm)	26,10 ^a	29,27 ^{ab}	27,51 ^a	39,99 ^b
LAE (μm)	10,24 ^a	9,42 ^a	9,73 ^a	14,13 ^b
AE (μm^2)	242,37 ^a	259,18 ^a	235,21 ^a	450,77 ^b
LPH (μm)	79,69 ^a	101,18 ^a	83,32 ^a	86,80 ^a
LAH (μm)	28,98 ^{ab}	41,55 ^b	21,48 ^a	34,74 ^{ab}
AH (μm^2)	2090,51 ^{ab}	3693,17 ^b	1537,71 ^a	2401,72 ^{ab}
LPM (μm)	196,97 ^a	202,72 ^a	176,07 ^a	165,44 ^a
LAM (μm)	92,84 ^a	135,55 ^a	107,88 ^a	98,58 ^a
AM (μm^2)	14540,73 ^a	23651,66 ^a	18017,20 ^a	12760,59 ^a

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey ($p \leq 0,05$).

NCH: número de capas celulares de la hipodermis LPE: longitud periclinal células epidermis LAE: longitud anticlinal células epidermis AE: área de células epidermis LPH: longitud periclinal células hipodermis LAH: longitud anticlinal células hipodermis AH: área de células hipodermis LPM: longitud periclinal células mesocarpo LAM: longitud anticlinal células mesocarpo AM: área de células mesocarpo

En lo que se refiere al espesor de la hipodermis, Lapins presenta un valor significativamente mayor que Regina y Kordia, no existiendo diferencias entre Regina y Sweetheart, por lo que estas diferencias no permiten explicar la distinta susceptibilidad que presentan al daño por pitting. La diferencia en el espesor de la hipodermis se debe a que la longitud anticlinal de las células de esta zona es mayor en aquellos cultivares que presentan mayor espesor de esta capa celular.

En lo que respecta al tamaño de las células del mesocarpo estos resultados concuerdan con Stroshine (1998), quien informa que en frutas y vegetales su diámetro varía entre 50 y 500 μm . No se presentan diferencias entre los cultivares, esto podría deberse a que según Olmstead *et al.* (2007) el tamaño de éstas células

depende del tipo y manejo de cultivo. Si bien no existen diferencias en el tamaño promedio de las células del mesocarpo, es posible observar (*Figura 7*) que el cultivar Sweetheart posee un tamaño de células más uniforme al que presentan los demás cultivares; al analizar el área de éstas células se tiene que Sweetheart presenta un coeficiente de variación cercano al 45%, mientras los otros cultivares oscilan entre un 84 y 95% de variación (*Tabla 4*).

Tabla 4. Análisis de la variabilidad del tamaño de células del mesocarpo expresado mediante coeficientes de variación (%), en cada uno de los cultivares estudiados.

Característica	Regina	Lapins	Kordia	Sweetheart
LPM	50,55	42,38	40,79	24,99
LAM	52,98	48,04	44,04	33,03
AM	95,35	84,64	92,66	45,64

LPM: longitud periclinal células mesocarpo LAM: longitud anticlinal células mesocarpo AM: área de células mesocarpo

La influencia de la elasticidad del fruto en la susceptibilidad al daño por pitting también puede observarse en los resultados obtenidos por Lidster y Tung (1980), donde la incidencia de pitting es mayor en aquella fruta que está a una temperatura baja cuando recibe el impacto, es decir fruta a menos de 10°C (Crisosto *et al.*, 1993); esto debido a que la baja temperatura provoca que el fruto aumente su rigidez y por tanto el tejido tiene una menor capacidad de deformación, lo que lo hace más propenso al daño mecánico por impacto. Por esta razón, la temperatura de impacto utilizada fue la misma en todos los cultivares, para evitar la influencia de este factor en los resultados.

Dado los resultados obtenidos es que adquiere relevancia lo expuesto por Toivonen *et al.* (2004) que indican que el grado de daño por pitting se encuentra asociado a varios factores fisiológicos, donde determinados factores presentarían una mayor importancia para ciertos cultivares que para otros.

Cuando la cadena comercial involucra prácticas intensivas de cosecha y postcosecha se requiere de cerezas con alta resistencia al daño mecánico (Zoffoli *et*

al., 2008), por lo que surge la necesidad de identificar la susceptibilidad que presentan diferentes cultivares al daño por pitting, ya que permite establecer medidas preventivas y así disminuir potenciales pérdidas económicas.

Estudio 2

5.6 Evaluación de pitting a nivel celular

En la *Figura 8*, basados en la tinción de fluorescencia se pueden distinguir claramente 2 zonas. El área oscura (no fluorescente) corresponde a células no viables las cuales fueron dañadas debido al impacto recibido. La visualización de células fluorescentes indica que se mantiene intacta la integridad de las membranas plasmática y del tonoplasto (Krasnow *et al.*, 2008) Esto lleva a concluir que es una metodología efectiva en la detección del daño celular producto del pitting. Este es un importante avance en el aspecto de comprender lo que ocurre a nivel celular en un fruto que presenta daño por pitting ya que hasta este momento se sabía que la lesión involucraba el colapso de células de la parte baja de la hipodermis sin existir daño en las células superiores (Porrit *et al.*, 1971; Wade y Bain, 1980), sin embargo esta metodología permite observar que las células de las capas superiores también se encuentran dañadas, ya que no son viables.

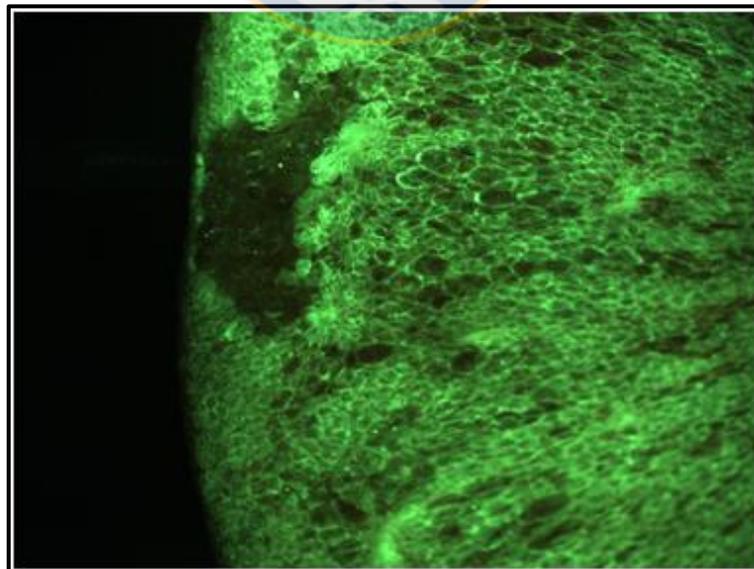


Figura 8. Visualización de área celular dañada por pitting, mediante microscopía de fluorescencia. La zona fluorescente corresponde al citoplasma de células viables.

Al analizar la viabilidad celular en cerezas Sweetheart con daño por impacto se tiene que la relación entre energía de impacto y tiempo de almacenamiento no resulta ser significativa, sólo la energía de impacto es un factor significativo. En la *Figura 9* se observa que existe una tendencia en que el daño es mayor el día 0, esto puede explicarse porque si bien el área dañada no va disminuir en el transcurso de los días, la deshidratación producida en el tejido producto del almacenamiento hace que el tejido se contraiga, por tanto, disminuye su volumen y por tanto el área dañada, no se presentan diferencias en los días posteriores. Por esto se puede concluir que el daño a nivel celular se produce en el instante en que se origina el impacto sin manifestarse un aumento en la proporción del daño. En el caso de la energía de impacto se observa que mientras mayor es la fuerza que origina el daño mayor es el área celular comprometida.

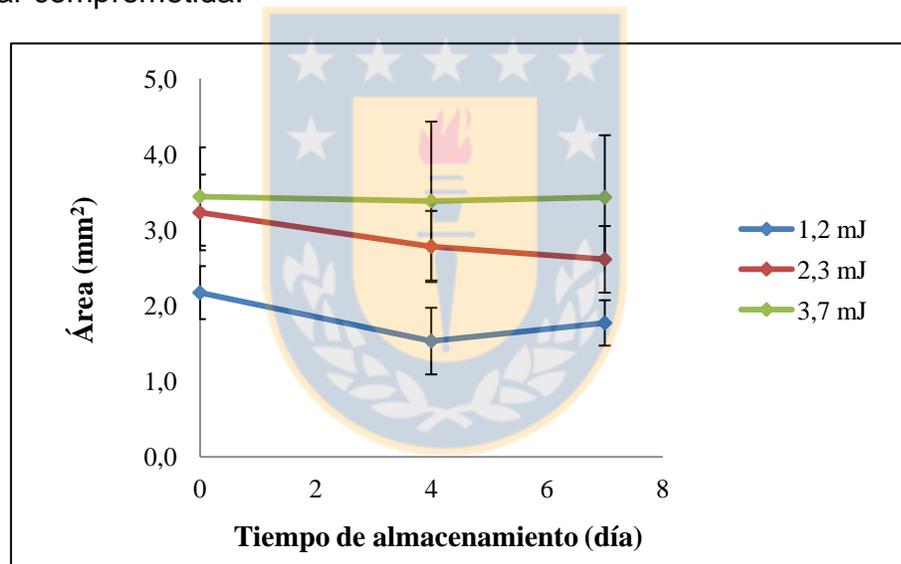


Figura 9. Evolución en el tiempo del daño celular, en función de la energía de impacto.

5.7 Daño externo asociado al daño celular

En la *Figura 10*, se puede observar cómo evoluciona la severidad de la lesión externa con el transcurso de los días.

Con respecto al área transversal y diámetro que abarca la lesión se tiene que el efecto tiempo de almacenamiento x energía de impacto resulta ser significativo, mientras que para la profundidad sólo el tiempo de almacenamiento es un factor significativo ($p < 0,05$). Se observa que la magnitud de la depresión aumenta a

medida que transcurren los días; con respecto a la energía de impacto se tiene que la correspondiente a 1,2 mJ genera un nivel de daño menor mientras no se presentan diferencias significativas al aplicar una energía de impacto de 2,3 mJ ó 3,7 mJ, aunque este último tiende a ser levemente superior. Esto indica que mientras mayor es la energía de impacto mayor es el daño asociado.

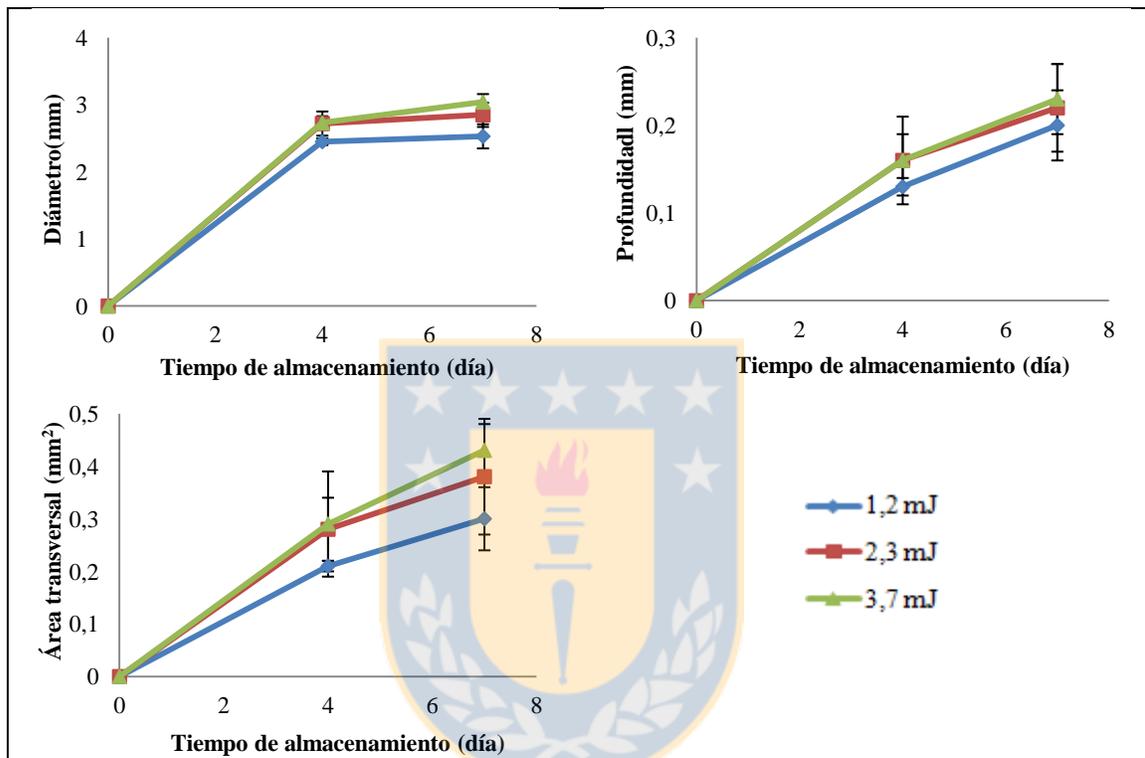


Figura 10. Evolución en el tiempo de la depresión superficial, en función de la energía de impacto.

Si se compara el daño interno producido en el tejido con la expresión del daño a través de la hendidura en la superficie, se tiene que el daño interno es visible desde el primer momento (Wade y Bain, 1980), en cambio el daño visual al inicio no es observable y este aparece y se agudiza con el transcurso de los días. Por lo que fruta aparentemente sana podría estar dañada manifestando este defecto de calidad de manera posterior, lo que haría contraproducente el proceso de selección previo a la comercialización (Candan *et al.*, 2014). Por esta razón es que se hace necesario establecer medidas preventivas que ayuden a mitigar las eventuales consecuencias de una mala manipulación y problemas en el diseño de equipos.

En la *Figura 11* se puede observar cómo la curvatura del fruto va disminuyendo a medida que transcurren los días, esto es una evidencia de la pérdida de peso que sufre la cereza producto de la deshidratación que ocurre durante el almacenamiento. La pérdida de agua es un factor potencial en la susceptibilidad al pitting a partir de que la expresión visual de la lesión ocurre sólo después de que la pérdida de agua ha ocurrido en la fruta (Toivonen *et al.*, 2004). Por esta razón el almacenamiento a temperaturas templadas facilita una rápida pérdida de agua desde la zona celular dañada provocando un más rápido desarrollo de pitting (Lidster y Tung, 1980). Por otro lado Wade y Bain (1980) no encontraron relación entre la pérdida de agua y el pitting. Otra teoría indica que la aparición del pitting se explicaría porque el tejido sano que rodea la lesión, reabsorbe los fluidos liberados por el tejido colapsado (Shackel *et al.*, 2000).

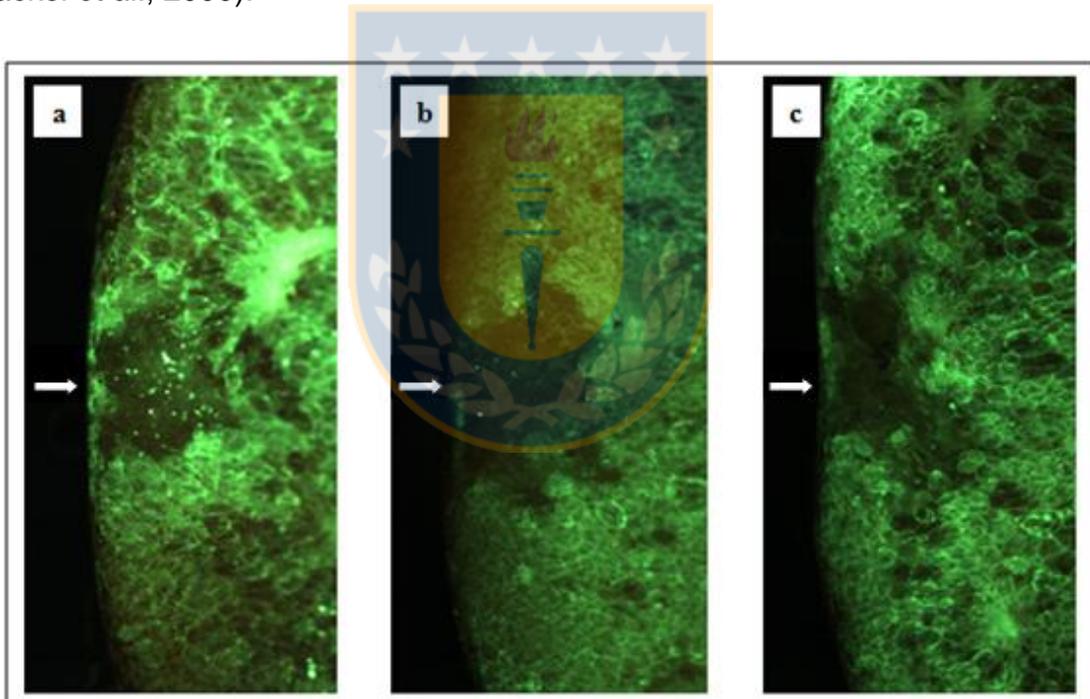


Figura 11. Evidencia de pérdida de peso en la curvatura del tejido. a) Día 0, b) Día 4 y c) Día 7.

Los valores de la *Tabla 5*, permiten analizar la relación existente entre daño por pitting a nivel interno (celular) y externo (depresión superficial), la que se estableció a partir del día 4 donde la lesión superficial comienza a ser observable. Se obtuvo que estas variables se relacionan de forma significativa, en una relación positiva y baja,

esto indica que mientras mayor es el daño a nivel interno mayor es la expresión superficial de pitting.

Tabla 5. Análisis de correlación lineal entre daño por pitting a nivel interno y externo, en cerezas del cultivar Sweetheart. (N = 55)

R	R ²	p-valor	* IC _R
0,32	0,102	0,0186	0,06 a 0,54

* IC_R: Intervalo de Confianza para el coeficiente R (95%)

5.8 Influencia del estado de madurez y firmeza del fruto sobre el daño por pitting

En cuanto a la influencia del estado de madurez (rojo y rojo oscuro) sobre la severidad de daño por pitting, se tiene que en las variables profundidad y área transversal no existen diferencias significativas. En tanto que en el diámetro de la lesión (*Tabla 6*) si existen diferencias significativas, siendo mayor el daño en el estado de madurez rojo oscuro. Esto concuerda con Candan *et al.* (2014) y Baeza (2013), sin embargo, se contrapone con los resultados obtenidos por Toivonen *et al.* (2004) y Sepúlveda (2013) que indican que en fruta que presenta un estado de madurez avanzado menor es el daño por pitting, esto puede deberse a que los estados de madurez analizados corresponden a estados intermedios, muy próximos entre sí.

Tabla 6. Análisis de la magnitud de daño por pitting (externo) y la firmeza en función del estado de madurez, después de 11 días de almacenamiento.

Variable	Estado de Madurez	
	Rojo	Rojo oscuro
Área	0,49 ^a	0,51 ^a
Profundidad	0,29 ^a	0,28 ^a
Diámetro	2,77 ^a	2,87 ^b
Firmeza	410,37 ^b	355,47 ^a

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey ($p \leq 0,05$)

El estado de madurez influye significativamente sobre la firmeza del fruto (Dussán-Sarria *et al.*, 2008), se obtuvo que las cerezas en estado de madurez rojo presentan una firmeza significativamente mayor a aquellas de color rojo oscuro (*Tabla 6*).

La relación existente entre la firmeza del fruto y la magnitud del daño a nivel interno no es significativa (*Tabla 7*), por lo que la firmeza del fruto no afecta el grado de daño por pitting a nivel celular.

Tabla 7. Análisis de correlación lineal entre daño por pitting a nivel interno y firmeza del fruto, en cerezas de cultivar Sweetheart. (N = 129)

R	R ²	p-valor	* IC _R
-0,08	0,006	0,3869	-0,25 a 0,10

* IC_R: Intervalo de Confianza para el coeficiente R (95%)

En cambio se observa que para el estado de madurez rojo oscuro la firmeza del fruto se relaciona significativamente con el daño por pitting a nivel externo (*Tabla 8*). La firmeza del fruto se relaciona en un sentido negativo con área, profundidad y diámetro de la lesión por pitting, esto indica que al tener cerezas de mayor firmeza el daño por pitting es menor. En lo que respecta al estado de madurez rojo sólo el diámetro de la lesión se relaciona significativamente con la firmeza, ésta relación es baja y se da en un sentido negativo.

Tabla 8. Análisis de correlación lineal entre magnitud de daño por pitting a nivel externo y firmeza del fruto, en dos estados de madurez de cerezas de cultivar Sweetheart, después de 11 días de almacenamiento. (N = 114)

Madurez	Variable	Firmeza			
		R	R ²	p-valor	* IC _R
Rojo	Área	-0,09	0,008	0,3625	-0,26 a 0,10
	Profundidad	0,01	0,0001	0,8908	-0,19 a 0,19
	Diámetro	-0,27	0,073	0,0041	-0,38 a -0,04
Rojo oscuro	Área	-0,37	0,137	0,0001	-0,51 a -0,20
	Profundidad	-0,33	0,109	0,0003	-0,47 a -0,15
	Diámetro	-0,28	0,078	0,0031	-0,43 a -0,10

* IC_R: Intervalo de Confianza para el coeficiente R (95%)

En la *Figura 12*, se observa que para el estado de madurez rojo oscuro existe una pequeña tendencia negativa, la cual no es visible para el color rojo. Esto permite observar que en el primer caso existe una relación significativa entre las variables, a diferencia de lo que ocurre en el segundo caso.

No está clara la incidencia que tiene la firmeza en la susceptibilidad al pitting. Algunos investigadores (Clayton *et al.*, 1998; Pérez *et al.*, 2010) indican que la firmeza estaría relacionada con la susceptibilidad al pitting ya que frutos más firmes son más resistentes al daño mecánico, de igual forma Toivonen *et al.* (2004) consideran que la firmeza puede ser considerada un factor fisiológico con potencial para ser un buen predictor de la susceptibilidad al pitting. Por el contrario Kappel *et al.* (2006) concluyeron que la firmeza de la fruta no tiene una relación significativa con la severidad del pitting.

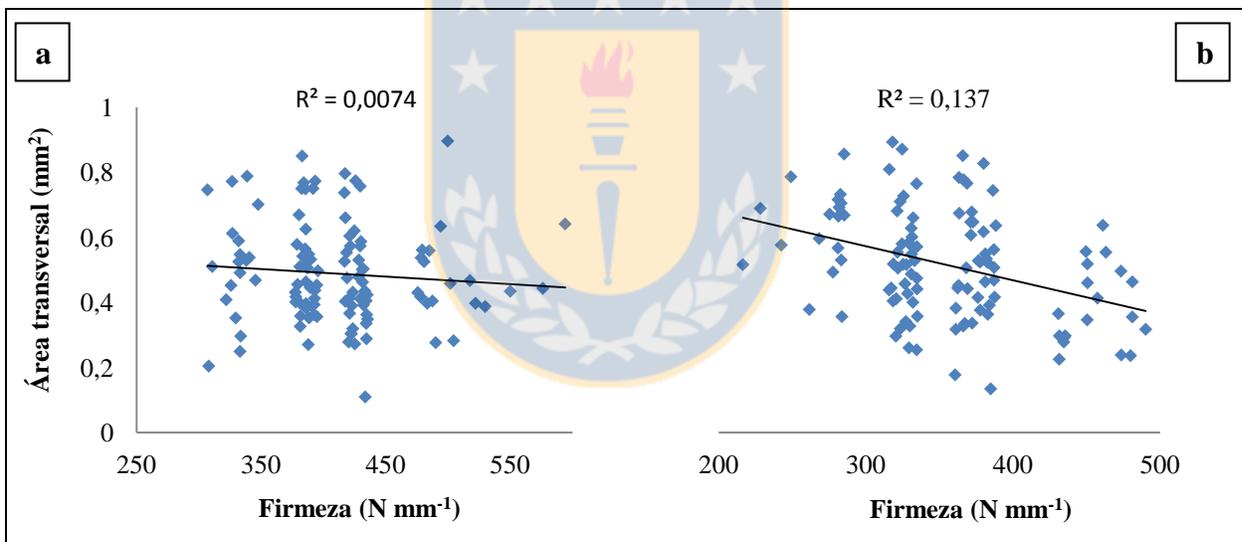


Figura 12. Correlación entre área de daño y firmeza en estado de madurez a) Rojo y b) Rojo oscuro.

6. CONCLUSIONES

- La severidad del daño por pitting en cerezas varía dependiendo del cultivar. El cultivar Regina es el más resistente, Sweetheart es el más susceptible y Lapins y Kordia presentan una susceptibilidad intermedia.
- La susceptibilidad al pitting de los distintos cultivares estaría relacionado con las propiedades elásticas del tejido, explicadas tanto por las propiedades mecánicas como histológicas. La mayor susceptibilidad que presenta el cultivar Sweetheart al daño por pitting puede explicarse en términos de la alta rigidez de su piel, la cual queda de manifiesto al presentar un alto valor de módulo de elasticidad asociado a gran tamaño de células epidérmicas y espesor de cutícula.
- El pitting a nivel celular se caracteriza por una zona correspondiente a células no viables, ésta es visible a partir del momento en que se produce el impacto, sin presentar diferencias con el transcurso de los días. Mientras que la expresión visual del pitting es evidente a partir de la primera semana de almacenamiento, aumentando con el tiempo. Ambas manifestaciones de daño son mayores a energías de impacto más elevadas.
- La relación entre pitting a nivel celular (daño interno) y la expresión visual del daño es significativa, se establece una relación directa y baja. No existe relación entre el pitting a nivel celular y la firmeza.
- El estado de madurez influye sobre la magnitud de la depresión superficial, específicamente en el diámetro, siendo mayor en frutos de madurez rojo oscuro. La firmeza del fruto se relaciona negativamente con el daño por pitting a nivel externo. Esta relación está influenciada por el estado de madurez, alcanzando una relación significativa en el color rojo oscuro y no existiendo relación en frutos en estado de madurez rojo.

BIBLIOGRAFÍA

- [1]. Alique, R; Zamorano, J; Martínez, M; Alonso, J. 2005. Effect of heat and cold treatments on respiratory metabolism and shelf-life of sweet cherry, type picota cv "Ambrunés". *Postharvest Biology and Technology* 35: 153-165.
- [2]. ASAE (USA). 2000. ASAE standards 2000: Standards Engineering Practices Data (47th. ed.). ASAE. St. Joseph, USA.
- [3]. Baeza, R. 2013. Evaluación de factores que inciden en el daño por Pitting en Cereza (*Prunus avium* L.) cvs. Regina y Sweetheart. Memoria de Título, Ingeniero Agrónomo. Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía. Chillán, Chile.
- [4]. Basanta, M; Plá, M; Stortz, C; Rojas, A. 2013. Chemical and functional properties of cell wall polymers from two cherry varieties at two developmental stages. *Carbohydrate Polymers* 92: 830-841.
- [5]. Candan, A. 2006. Cosecha y poscosecha de cerezas. *Fruticultura y Diversificación* 12(50):32-38.
- [6]. Candan, A., Raffo, M., Calvo, G. and Gomila, T. 2014. Study of the main points of impact during cherry handling and factors affecting pitting sensitivity. *Acta Hort.* 1020:137-141.
- [7]. Clayton, M; Biasi, B; Mitcham, B. 1998. *Perishables Handling Quarterly Issue* (95):2-4.
- [8]. Crisosto, C; Garner, D; Doyle, J; Day, K. 1993. Relationship between fruit respiration, bruising susceptibility, and temperature in sweet cherries. *HortScience* 28(2): 132-135.
- [9]. Crisosto, C; Andris, H; Day, K; Garner, D. 1994. Cold 'Brooks' cherries suffer more pitting and bruising. *California Agriculture* 48(6): 18-19.

- [10]. Demirsoy, L., Demirsoy, H. 2004. The epidermal characteristics of fruit skin of some sweet cherry cultivars in relation to fruit cracking. *Pak. J. Bot.* 36(4):725-731.
- [11]. Dussán-Sarria, S; Honório, S; Matías, M. 2008. Resistencia mecánica, tasa respiratoria y producción de etileno de caqui 'Fuyu' durante el almacenamiento. *Rev. Bras. Eng. Agric. Ambiental* 12(5): 498-502.
- [12]. Einhorn, T., Wang, Y., Turner, J. 2013. Sweet cherry fruit firmness and postharvest quality of late-maturing cultivars are improved with low-rate, single applications of gibberelic acid. *HortScience* 48(8):1010–1017.
- [13]. Ellena, M; Aguilera, A; Ferrada, S; Montenegro, A; Guerrero, J; Rómbola, A. 2006. Cultivo del cerezo para la zona sur de Chile. Temuco, Chile. Boletín INIA N° 135.
- [14]. Grant, J; Thompson, J. 1997. Packing line modifications reduce pitting and bruising of sweet cherries. *California Agriculture* 51(2): 31-35.
- [15]. Grau, P. 2007. Cultivo del cerezo en el secano interior de la región del Bío-Bío. Boletín INIA N° 163.
- [16]. Heslop-Harrison, J; Heslop-Harrison, Y. 1970. Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence; intracellular hydrolysis of fluorescein diacetate. *Stain Technology* 45: 115-120.
- [17]. Horvitz, S; López, A; Yommi, A; Godoy, C. 2004. Efecto del estado de madurez y atmósferas modificadas sobre la calidad de cerezas cv. Sweetheart. *Rev. FCA UNCuyo* 36(2):39-48.
- [18]. Kabas, O; Ozmerzi, A. 2008. Determining the mechanical properties of cherry tomato varieties for handling. *Journal of Texture Studies* 39:199-209.
- [19]. Kappel, F., Toivonen, P., McKenzie, D., Stan, S. 2002. Storage characteristics of new sweet cherry cultivars. *HortScience* 37(1):139-143.

- [20]. Kappel, F; Toivonen, P. 2005. Resistance of Advanced Sweet Cherry Selections and Cultivars to Fruit Surface Pitting. *Acta Hort.* 667: 515-521.
- [21]. Kappel, F; Toivonen, P; Stan, S; McKenzie, D. 2006. Resistance of sweet cherry cultivars to fruit surface pitting. *Can. J. Plant Sci.* 86:1197-1202.
- [22]. Kirby, A; Gunning, P; Waldron, K; Morris, V; Ng, A. 1996. Visualization of plant cell walls by atomic force microscopy. *Biophysical Journal* 70: 1138-1143.
- [23]. Krasnow, M; Matthews, M; Shackel, K. 2008. Evidence for substantial maintenance of membrane integrity and cell viability in normally developing grape (*Vitis vinifera* L.) berries throughout development. *Journal of Experimental Botany* 59(4): 849-859.
- [24]. Labra, E., Hirzel, J., Astudillo, O. 2004. Fruticultura: Renovación de huertos de cerezos. Villa Alegre, Chile. *Boletín INIA* N° 113. 88p.
- [25]. Lidster, P., Tung, M. 1980. Effects of fruit temperatures at time of impact damage and subsequent storage temperature and duration on the development of surface disorders in sweet cherries. *Can. J. Plant Sci.* 60:555-559.
- [26]. Manganaris, G; Ilias, I; Vasilakakis, M; Mignani, I. 2007. The effect of hydrocooling on ripening related quality attributes and cell wall physicochemical properties of sweet cherry fruit (*Prunus avium* L.). *International Journal of Refrigeration* 30:1386-1392.
- [27]. Mitcham, E; Clayton, M; Biasi, W. 1998. Comparison of Devices for Measuring Cherry Fruit Firmness. *HortScience* 33(4):723-727.
- [28]. Mohsenin, N. 1986. Physical properties of plants and animal materials: structure, physical characteristics and mechanical properties. Second edition. Gordon and Breach, Science Publishers. Inc., New York. U.S.A.

- [29]. Muskovics, G; Felföldi, J; Kovács, E; Perlaki, R; Kállay, T. 2006. Changes in physical properties during fruit ripening of Hungarian sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars. *Postharvest Biology and Technology* 40:56-63.
- [30]. Naderiboldaji, M; Khadivi, K; Tabatabaeefar, A; Varnamkhasti, G; Zamani, Z. 2008. Some Physical Properties of Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) Fruit. *Am-Euras. J. Agric. & Environ. Sci.* 3(4): 513-520.
- [31]. ODEPA (Chile). 2013. Frutales: superficie y producción [en línea]. <<http://www.odepa.gob.cl/articulos/MostrarDetalle.action;jsessionid=41C9B5816EE2263A6D1BFE34C2E3396D?idcla=12&idn=1737>> [Consulta: 24 MARZO 2014].
- [32]. Olmstead, J; Iezzoni, A; Whiting, M. 2007. Genotypic differences in sweet cherry fruit size are primarily a function of cell number. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 132(5): 697-703.
- [33]. Patten, K; Patterson, M; Kupferman, E. 1983. Reduction of Surface Pitting in Sweet Cherries. *Postharvest Pomology Newsletter* 1(2)
- [34]. Pérez, R; Gómez, M; Morales, M. 2010. Description and quality evaluation of sweet cherries cultured in Spain. *Journal of Food Quality* 33:490-506.
- [35]. Porrit, S; Lopatecki, L; Meheriuk, M. 1971. Surface pitting a storage disorder of sweet cherries. *Can. J. Plant. Sci.* 51:409-414.
- [36]. Rebolledo, F. 2011. Cuantificación y evolución del daño por impacto a través de fotografía digital en cerezas (*Prunus avium* L.). Memoria de título, Ingeniero Agrónomo. Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía, Chillán, Chile.
- [37]. Sekse, L. 1995. Fruit cracking in sweet cherries (*Prunus avium* L.). Some physiological aspects-a mini review. *Scientia Horticulturae* 63: 135-141.

- [38]. Sekse, L; Meland, M; Reinsnos, T; Vestrheim, S. 2009. Cultivar and Weather Conditions Determine Pre and Postharvest Fruit Firmness in Sweet Cherries (*Prunus avium L.*). *Europ. J. Hort. Sci.* 74(6):268-274.
- [39]. Sepúlveda, R. 2013. Expresión del daño por pitting mediante distintos niveles de inducción de potencial hídrico en cerezas (*Prunus avium L.*) cvs. Sweetheart y Regina. Memoria de título, Ingeniero Agroindustrial. Universidad de Concepción, Facultad de Ingeniería Agrícola. Chillán, Chile.
- [40]. Shackel, K; Chen, P; Crisosto, C; Grant, J; Kupferman, G; Mitcham, E; Polito, V; Reed, N; Thompson, J. 2000. Report to the Cherry California Advisory Board.
- [41]. Sîrbu, S; Niculaua, M; Chirita, O. 2012. Physico-chemical and antioxidant properties of new sweet cherry cultivars from Iasi, Romania. *Agronomy Research* 10(1-2):341-350.
- [42]. Stroshine, R. 1998. Physical properties of agricultural materials and food products. Department of Agricultural and Biological Engineering. Purdue University. 287 pp.
- [43]. Thompson, J; Grant, J; Kupferman, E; Knutson, J. 1997. Reducing Sweet Cherry Damage in Postharvest Operations. *HortTech.* 7(2):134-138.
- [44]. Toivonen, P; Kappel, F; Stan, S; McKenzie, D; Hocking, R. 2004. Firmness, Respiration, and Weight Loss of 'Bing', 'Lapins' and 'Sweetheart' Cherries in Relation to Fruit Maturity and Susceptibility to Surface Pitting. *HortScience* 39(5):1066-1069.
- [45]. Torrealba, C. 2005. Herramientas de segregación en cerezas (*Prunus avium L.*) según susceptibilidad a pitting. Tesis de Magíster en Ciencias Pecuarias. Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Santiago, Chile.
- [46]. Tukey, H; Young, J. 1939. Histological study of the developing fruit of the sour cherry. *Botanical Gazette* 100(4):723-749.

- [47]. Vursavuş, K; Kelebek, H; Selli, S. 2006. A study on some chemical and physico-mechanic properties of three sweet varieties (*Prunus avium* L.) in Turkey. Journal of Food Engineering 74:568-575.
- [48]. Wade, N; Bain, J. 1980. Physiological and anatomical studies of surface pitting of sweet cherry fruit in relation to bruising, chemical treatments and storage conditions. Journal of Horticultural Science 55(4):375-384.
- [49]. Yamaguchi, M; Sato, I; Ishiguro. 2002. Influences of epidermal cell sizes and flesh firmness on cracking susceptibility in sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars and selections. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 71(6):738-746.
- [50]. Zoffoli, J., Muñoz, S., Valenzuela, L., Reyes, M., Barros, F. 2008. Manipulation of 'Van' sweet cherry crop load influences fruit quality and susceptibility to impact bruising. Acta Hort. 795:877-891.

