



Ciruela y Cereza: del Campo al Consumidor

Plum and Sweet Cherry: from Field to Consumer



THE INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PLUM AND SWEET CHERRY, organized by the Postharvest Group at Miguel Hernández University (UMH) is one of the activities of the International Trade Show for the Fruit and Vegetable Industry (FRUIT ATTRACTION 2012). Fruit Attraction is co-organized by FEPEX (Spanish Federation of Producers and Exporters of Fruits, Vegetables, Flowers and Live Plants) and IFEMA (Trade Fair Institution of Madrid) and constitutes a new concept of trade fair, designed according to the needs of the fruit and vegetable sector. The scientific communications and round table discussions will form part of the Scientific Workshops of the Trade Show.

ISBN: 978-84-939989-3-6

Depósito Legal: A 669-2012

Autores todos los Autores de los Capítulos

© Limencop S.L.

Alicante - Spain

**I. Management of Genetic Resources: Biodiversity,
Molecular Biology and Biotechnology.
Gestión de Recursos Genéticos: Biodiversidad,
Biología Molecular y Biotecnología.**

Nuevo programa de mejora genética del ciruelo japonés en Murcia (España). Ruiz, D., Egea, J., Carrillo, A., Frutos, D., García, F., Cos, J.	3
Mejora biotecnológica de ciruelo europeo: inducción de resistencia a la agalla de la corona. Alburquerque N., Petri C., Faize L., Burgos L.	9
Aspectos fisiológicos en la variabilidad genotípica de ciruelas amarillas y púrpuras. Castillo S., Serrano M., Zapata P.J., Guillen F., Valverde J.M., Martínez-Romero D., Valero D., Díaz-Mula H.M.	15
Evolución de los parámetros de calidad durante el desarrollo de la cereza en el árbol: diferencias entre variedades. Díaz-Mula H.M., Valero D., Castillo S., Martínez-Romero D., Zapata P.J., Guillen F., Valverde J.M. y Serrano M.	25
Caracterización de 5 variedades de ciruela cultivadas en la Región de Murcia. Melgarejo, P., Martínez, J.J., Martínez, R., Legua, P., Carbonell-Barrachina, A.A., Calin, A., Melgarejo-Sánchez, P., Hernández F.	31

**II. From Cultivation to Harvest: Cultural Practices,
Nutrient Management, Irrigation, Flowering, Crop
Protection, Physiological Disorders, Ripening and
Harvest.
Del Cultivo a la Recolección: Prácticas de Cultivo,
Nutrición, Riego, Floración, Protección de
Cultivos, Desórdenes Fisiológicos, Maduración y
Recolección.**

Caracterización del crecimiento del fruto en dos variedades de ciruelo japonés en Extremadura. Blanco-Cipollone, F., Moñino M.J., Samperio A., Vivas A., Prieto M.H.	39
---	----

Efectos del acolchado plástico y del cultivo en mesetas sobre el crecimiento y producción del ciruelo. <i>Sánchez E., Martínez J.J., Martínez R., Legua P., Melgarejo-Sánchez P., Hernández Fca., Melgarejo P.</i>	49
Efecto del análogo de brasinosteroide DI-31, formulado como W. UNIFORMITY SUPERPLUS, sobre la producción de diversas variedades de cereza en la provincia de Murcia. <i>Serna V., Serna M., Amorós A.</i>	57
Comparison of standard fruit quality parameters of several Japanese plum cultivars organic and conventionally managed. <i>Pérez-Romero, L.F., Camacho, M., Arroyo, F.T., Santamaría C., Daza A.</i>	65
Response of a cherry long cycle cultivar to different irrigation strategies in the Valley of Jerte, Extremadura, Spain. <i>Nieto Serrano E., Campillos Torres C., Del Henar Prieto Losada M.</i>	73
Incidence of <i>Prune Dwarf</i> (PDV), <i>Prunus Necrotic Ringspot</i> (PNRSV) and <i>Apple Chlorotic Leafspot</i> (ACLSV) viruses in sweet cherry plantations of Salamanca province (Spain). <i>Pérez-Sánchez R., Morales-Corts M.R., García-Benavides P., Gómez-Sánchez M.A.</i>	81
Respuesta a la conservación en frío de tres variedades locales de ciruela del sureste español. <i>Pretel M.T., Egea I., Sánchez-Bel P., García-Legaz M.F., López-Gómez E., Martínez-Escanciano P., Martínez-Orenes G. y Martínez-Madrid, MC.</i>	89
Aplicación pre-cosecha de <i>Aloe vera</i> como tratamiento antimicrobiano en cereza. <i>Valverd J.M., Zapata, Díaz-Mula Guillén F., Martínez-Romero D., Castillo S., Serrano M., Valero D.</i>	97

III. Health Related Issues.

Aspectos Relacionados con la Salud.

Bioactive compounds of eleven sweet cherries cultivars. <i>Díaz-Mula H.M., Valero D., Zapata P.J., Guillén F., Castillo S., Serrano M., Martínez-Romero D.</i>	107
---	-----

Development of bioactive natural ingredients from sweet cherry and plum wastes. <i>Serra A.T., Matias A.A., Nunes S., Alexandre A., Nunes A.N., Bronze M.R., Catarina M.M.</i>	117
Evolution of firmness and functional compounds during postharvest storage of Japanese plums. <i>Velardo B.M., Miguel-Pintado C., Bernalte M.J.G., Ayuso M.C.Y., Lozan, M. R., González-Gómez, D.</i>	129
Bioactive compounds and antioxidant activity in different plum cultivars. <i>P.J. Zapata, H.M. Díaz-Mula, F. Guillén, D. Martínez-Romero, S. Castillo, M. Serrano, J.M. Valverde, D. Valero</i>	137
Phytochemical and bioactivity characterization of nine sweet cherry varieties. <i>Serra A. T., Bronze M. R., Duarte C.M.M.</i>	147

IV. Postharvest Management, Processing and Added-Value. **Manejo Post-recolección, Procesado y Valor Añadido.**

Optimizing handling for superior fresh market quality of sweet cherries and potential value-added product. <i>Toivonen P.</i>	159
Edible coatings based on hydroxypropylcellulose for plum postharvest preservation. <i>Pérez-Gago B.</i>	165
Active packaging development to improve plum quality and antioxidant properties. <i>Guillén F., Valero D., Zapata P.J., Serrano M., Valverde J.M., Díaz-Mula H.M., Castillo S., Martínez-Romero D.</i>	173
Efectos de tratamientos de pre-refrigeración y de calor en la conservación de cerezas (<i>Prunus avium</i> L.). <i>Valverde J.M., Valero D., Guillén F., Zapata P.J., Martínez-Romero D., Serrano M, Díaz-Mula H.M., Castillo S.</i>	183

Effect of controlled atmosphere packaging on quality properties of ‘Ambrunés’ sweet cherries. <i>Serradilla M.J., Martín A., Ruiz-Moyano S., González-Gómez D., López-Corrales M. Córdoba M.G.</i>	193
Conservación de ciruela en atmósfera modificada generada en palets con embalaje mixto de copolímero y silicona. <i>Aguayo E., Escalona V.H., Artés-Hernández F., Artés F.</i>	199
Infiltration of aloe vera gel during postharvest storage <i>Valero D., Serrano M., Martínez-Romero D., Castillo S., Guillén F., Zapata P.J., Díaz-Mula H. M., Valverde J.M.</i>	207
Desinfección eficaz de cámaras y centrales hortofrutícolas. <i>Mottura M.C., Torregrosa C., Orihuel B.</i>	213

V. Economics, Trade and Marketing. Economía, Comercio y Marketing.

La tecnología harpin: una manera novedosa de entender los mecanismos de autodefensa de las plantas. “PROAC”: molécula activadora de la inducción de resistencia y su efecto en la calidad y post-cosecha del fruto. <i>PLANT HEALTH CARE Y AGRODISA S.L.</i> <i>Martínez Esteban J.</i> <i>Marín M.A. Ángel Pablo</i>	223
---	-----

- I. Management of Genetic Resources: Biodiversity, Molecular Biology and Biotechnology.***
- I. Gestión de Recursos Genéticos: Biodiversidad, Biología Molecular y Biotecnología.***

Madrid 201

NUEVO PROGRAMA DE MEJORA GENÉTICA DEL CIRUELO JAPONÉS (*PRUNUS SALICINA* LINDL.) EN MURCIA

Ruiz, D.¹, Egea, J.¹, Carrillo, A.², Frutos, D.², Guevara, G.², García, F.³, Cos, J.²

¹Departamento de Mejora Vegetal, CEBAS-CSIC, Apdo. 164, Campus Universitario de Espinardo 30100, Murcia.

²Departamento de Hortofuticultura, IMIDA, C/ Mayor, s/n. 30150 La Alberca, Murcia.

³Oficina Comarcal Agraria de Cieza, Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia, Crta. de Murcia s/n, 30530 Cieza, Murcia.

Resumen

Recientemente se ha iniciado en Murcia un programa de mejora genética de la especie ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl.), coordinado entre el CEBAS-CSIC y el IMIDA, con el objetivo de obtener nuevas variedades que palién las deficiencias que presentan las variedades tradicionales y reúnan las siguientes características: maduración temprana (Mayo-Junio), productividad y calidad de fruto, y resistencia al virus de la sharka (PPV). El desarrollo del proyecto implica asimismo diferentes líneas de actuación, como: i) creación de una colección de variedades potencialmente utilizable como parentales; ii) evaluación de aspectos clave de las variedades en colección tales como las necesidades de frío invernal para la salida del letargo, los alelos de compatibilidad floral o el nivel de resistencia/susceptibilidad al virus de la Sharka; iii) búsqueda de fuentes de resistencia al virus de la sharka. En el año 2010 se inició la colección de variedades, y en los últimos dos años se han diseñado y realizado los primeros cruzamientos intervarietales, obteniéndose mediante germinación 'in vitro' en torno a 1.500 descendientes procedentes de un total de 15 cruzamientos.

Palabras clave: *Prunus salicina*, precocidad, calidad de fruto, resistencia a sharka, cruzamientos, selección

INTRODUCCIÓN

España es uno de los principales productores mundiales de ciruela, cifrándose su producción en torno a 190.000 toneladas anuales (FAO, 2009), siendo el tercer frutal de hueso en importancia en nuestro país tras el melocotonero y el almendro. Extremadura, Región de Murcia y Andalucía son las principales zonas productoras (MARM, 2011) (Tabla 1). La importancia de la producción española se debe principalmente a la buena adaptación de las variedades de ciruelo japonés a nuestras condiciones climáticas. Un aspecto muy destacable es la posibilidad del cultivo de variedades precoces, que permiten producciones en mayo y junio, evitando en gran medida la competencia en los mercados europeos, con las consiguientes ventajas económicas que ello conlleva.

A pesar de esta ventaja comparativa, si examinamos los datos de superficie cultivada en España en los últimos diez años (MARM, 2011), constatamos que ha tenido lugar una caída notable de la misma en los últimos 5 años, habiendo pasado de unas 21.000 hectáreas en el año 2005 a unas 18.500 hectáreas en el año 2009 (Figura 1). Este descenso se debe a la significativa disminución de la superficie cultivada tanto en la Región de Murcia como en la Comunidad Valenciana, dos regiones tradicionalmente

productoras de ciruela, que han perdido más de 1.000 hectáreas de cultivo cada una (Figura 2).

El cultivo del ciruelo en España presenta una serie de deficiencias y problemas que es preciso abordar con premura. Por una parte, el elenco de variedades utilizadas tradicionalmente es reducido y muchas de las nuevas variedades proceden de programas de mejora foráneos, lo que implica generalmente royalties notables, falta de información, disponibilidad limitada y tardía de las mejores variedades y restricciones en la movilidad de las nuevas obtenciones. Muchas de las variedades introducidas por esta vía, no han sido en general útiles para paliar las dificultades. Su inadaptación a nuestras condiciones, generalmente por elevadas necesidades de frío invernal, su autoincompatibilidad frecuente y no explicitada, su mediocre calidad gustativa, etc. han, incluso, aumentado las dificultades. Además, la disponibilidad de variedades de maduración temprana es muy escasa, limitándose prácticamente a la variedad 'Red Beaut' y algunas de sus mutaciones y descendientes. Un apartado que merece ser destacado por su importancia, y también por las dificultades que conlleva para el cultivo, es la autoincompatibilidad (a veces androesterilidad) floral y la necesidad de polinización cruzada de prácticamente todas las variedades de ciruelo japonés. Debemos reseñar que la inmensa mayoría de las variedades presentan autoincompatibilidad, es decir necesitan ser polinizadas por otra variedad. La identificación de los alelos de incompatibilidad polen-pistilo de un amplio grupo de variedades ha posibilitado el establecimiento de hasta 13 grupos de incompatibilidad floral en la especie (Guerra y col. 2012).

Otro grave problema que afecta fundamentalmente a la Región de Murcia y Comunidad Valenciana es la incidencia del virus de la sharka, que causa importantes daños en esta especie frutal afectando la producción y la calidad (Llácer y Cambra, 1986) (Figura 3). Además, el ciruelo, es una fuente de infección para otras especies frutales, como el melocotonero y especialmente el albaricoquero, donde la afección de la sharka es también un problema crucial. Se trata de un grave problema de difícil solución, ya que no se dispone de variedades de ciruelo japonés resistentes a esta devastadora enfermedad, y la práctica totalidad de las variedades cultivadas de ciruelo japonés son susceptibles al mismo (Rubio y col. 2011), siendo especialmente sensible la mencionada variedad Red Beaut.

La mediocre calidad comercial de parte de las variedades cultivadas constituye otro de los problemas que se hacen presentes en el ciruelo japonés. La creciente competitividad de los mercados unida a las nuevas exigencias de los consumidores, lleva a la necesidad de producir una ciruela de gran calidad caracterizada por un aspecto atractivo, adecuada textura y firmeza, y elevada calidad gustativa.

En este contexto, se pone en marcha el presente programa de mejora genética del ciruelo japonés, con la finalidad de dar respuesta a las deficiencias mencionadas y satisfacer las necesidades del sector. La generación de nuevas variedades de maduración temprana, elevada calidad de fruto y en la medida de lo posible, autocompatibilidad floral y resistencia al virus de la sharka, se hace indispensable para asegurar el futuro y la rentabilidad de este cultivo frutal.

OBJETIVOS

El objetivo principal de este proyecto es la obtención de nuevas variedades de ciruelo japonés que aúnen las características deseadas: fecha de maduración temprana, productividad, autocompatibilidad floral, elevada calidad de fruto y resistencia al virus de la Sharka. El desarrollo del proyecto permitirá asimismo profundizar en el conocimiento de diversos aspectos de interés, poco estudiados hasta la fecha, tales como las necesidades de frío invernal de las variedades actualmente cultivadas, los alelos de compatibilidad floral de las variedades en colección (mediante la utilización de marcadores moleculares) y el nivel de resistencia/susceptibilidad al virus de la Sharka de las distintas variedades de ciruelo cultivadas y de posibles donantes de resistencia.

MATERIAL Y MÉTODOS

El desarrollo del programa de mejora genética abordará diferentes líneas de actuación:

- i. Creación de una colección de variedades potencialmente utilizables como parentales en los cruzamientos intervarietales.
- ii. Caracterización integral de las variedades potencialmente utilizables como parentales. El objetivo es recabar la información necesaria para el diseño eficiente de los cruzamientos a realizar. Se evaluarán aspectos clave como las necesidades de frío invernal para la salida del letargo, fecha de floración y de maduración en nuestras condiciones de cultivo, alelos de compatibilidad, análisis de calidad de la fruta y nivel de resistencia/susceptibilidad al virus de la sharka.
- iii. Diseño y realización de cruzamientos intervarietales, y obtención de descendencias. Se procederá de la manera clásica: elección de parentales, polinizaciones controladas, obtención de frutos y extracción de semillas, estratificación, germinación ‘in vitro’ si es necesario para el rescate de embriones inmaduros, siembra en macetas y traslado al terreno definitivo.
- iv. Evaluación de descendencias y selección de individuos de interés.

RESULTADOS

El inicio del programa de mejora genética del ciruelo japonés es muy reciente, por lo que evidentemente la generación de resultados es escasa. No obstante, se ha avanzado satisfactoriamente en las diferentes líneas de actuación propuestas, tal como se detalla a continuación:

- i. Respecto a la creación de una colección de variedades potencialmente utilizables como parentales, algunas de las variedades que integran ya la colección son: ‘Songria 15’, ‘Sonrisa 25’, ‘Earliqueen’, ‘Red Beaut’, ‘Gaia’, ‘Royal Garnet’, ‘Pioneer’, ‘Black Splendor’, ‘Golden Japan’, ‘Owen T.’, ‘Show Time’, ‘Black Diamond’, ‘Black Gold’, ‘Sun Kiss’, ‘Sun Dew’ y ‘Santa Rosa’.
- ii. En relación a la caracterización de variedades comerciales de interés para su utilización como genitores, especialmente considerando los aspectos clave ya mencionados, disponemos de la primera información relativa a las necesidades de frío invernal de las principales variedades de ciruelo cultivadas. Este próximo

invierno realizaremos una segunda cuantificación de las necesidades de frío. Los datos obtenidos hasta el momento muestran un amplio rango de necesidades, desde 358 chill units para la variedad ‘Pioneer’, hasta 1052 chill units de ‘Golden Globe’. Las fechas de floración oscilaron en el año 2012 entre el 5 de marzo y el 31 de marzo. Esta información es muy interesante para conocer la capacidad de adaptación a las distintas áreas de cultivo en función de sus condiciones climáticas, así como para identificar los genitores más idóneos para nuestros objetivos. También se ha iniciado la caracterización pomológica desde el punto de vista de la calidad del fruto de aquellas variedades potencialmente interesantes para su uso como genitores en los cruzamientos. Por último se ha recabado toda la información disponible en lo referente a grupos de incompatibilidad floral (Guerra y col. 2012) y resistencia/susceptibilidad al virus de la sharka (Rubio y col. 2011). En el presente programa de mejora se contempla el estudio de aquellas variedades que no han sido evaluadas en estos trabajos previos.

iii. En los últimos dos años se han diseñado y realizado los primeros cruzamientos intervarietales, obteniéndose las primeras descendencias mediante germinación ‘in vitro’. Se ha procedido de la manera clásica: elección de parentales, polinizaciones controladas, obtención de frutos y extracción de semillas, germinación ‘in vitro’ para el rescate de embriones inmaduros y siembra en macetas. En la actualidad se está preparando su traslado al terreno definitivo. Hasta la fecha se han obtenido en torno a 1.500 descendientes procedentes de un total de 15 cruzamientos. Debemos indicar que también hemos realizado algunos cruzamientos interespecíficos con albaricoquero, utilizando variedades resistentes al virus de la sharka.

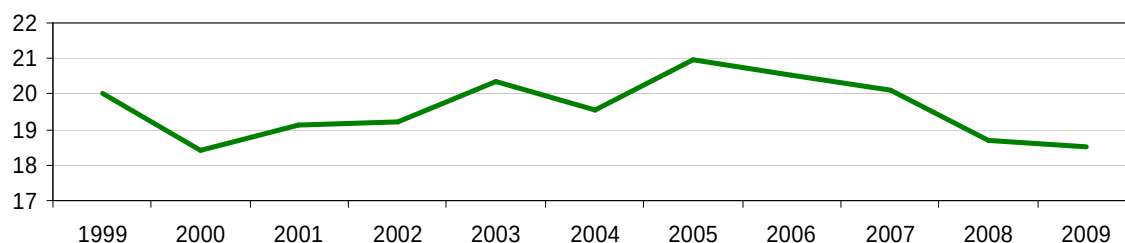
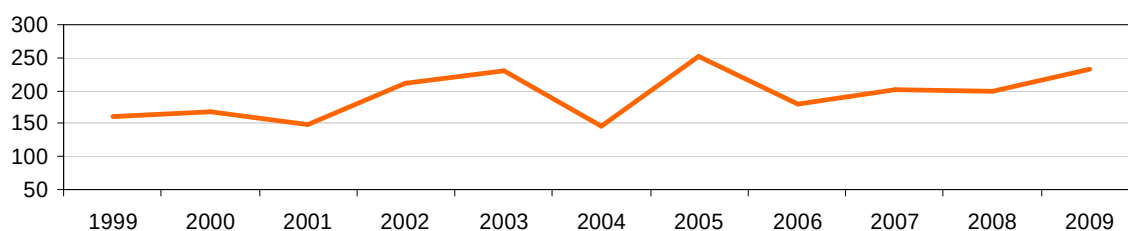
Referencias

- FAO. 2012. Los datos de Faostat 2012. <http://faostat.fao.org>.
- Guerra, M.E., López-Corrales, M., Wunsch, A. 2012. Improved S-genotyping and new incompatibility groups in Japanese plum. *Euphytica* 186, 445-452.
- Llácer, G., Cambra, M. 1986. Occurrence of plum pox virus in Spain in a new natural host, *Prunus salicina* Lindl. (Japanese plum). *Plant Disease*, 70 (2). Disease note.
- MARM. 2011. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, 2000-2009. Anuario de estadística agraria. <http://www.marm.es>.
- Rubio, M., García-Ibarra, A., Dicenta, F., Martínez-Gómez, P. 2011. Plum pox virus (sharka) sensitivity in *Prunus salicina* and *Prunus cerasifera* cultivars against a Dideron-type isolate. *Plant Breeding* 130, 283-286.

Tabla 1. Superficie y producción de las principales regiones productoras españolas.

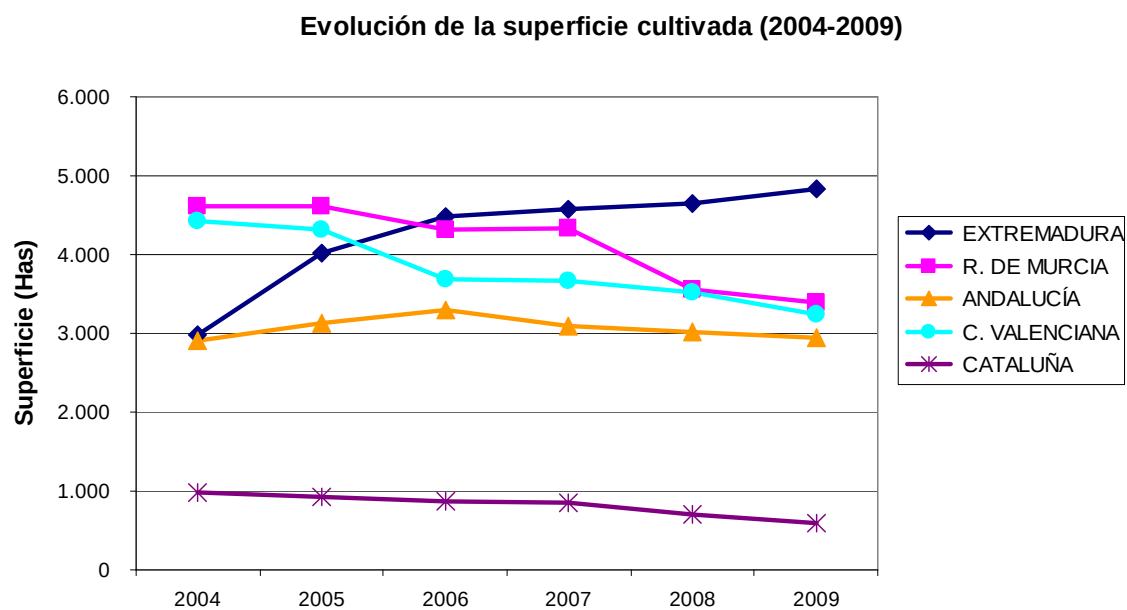
Región	Superficie (Has)	%	Producción (Tns)	%
Extremadura	4.254	21.6	67.054	33.3
Región de Murcia	4.135	21.0	41.187	20.4
Andalucía	3.063	15.5	39.556	19.6
Comunidad Valenciana	3.812	19.3	17.039	8.5
Cataluña	823	4.2	7.532	3.7
Otros	3.638	18.4	29.178	14.5
Total	19.724	100	201.545	100

Fuente: MARM (2004-2011)

a) Evolución de la superficie total de ciruelo en España (miles de hectáreas)**b) Evolución de la producción total de ciruelo en España (miles de toneladas)**

Fuente: MARM (1999-2009)

Figura 1. Evolución de la superficie (a) y producción (b) de ciruelo en los últimos 10 años en España



Fuente: MARM (2004-2009)

Figura 2. Evolución de la superficie de ciruelo en las principales regiones productoras españolas



Fuente: Manuel Rubio (2011)

Figura 3. Efectos del virus de la sharka sobre las hojas y el fruto de ciruelo japonés.

Madrid 2012

MEJORA BIOTECNOLÓGICA DE CIRUELO EUROPEO: INDUCCIÓN DE RESISTENCIA A LA AGALLA DE LA CORONA

Alburquerque, N.; Petri, C.; Faize, L.; Burgos, L.

Departamento de Mejora Vegetal. Grupo de biotecnología. Apartado de correos 164. CEBAS-CSIC. e-mail: nalbur@cebas.csic.es

Resumen

El “crown gall” o agalla de corona es una enfermedad causada por el patógeno del suelo *Agrobacterium tumefaciens* y que afecta de forma muy importante a muchas dicotiledóneas, incluyendo numerosos frutales, entre ellos los del género *Prunus*. En este trabajo pretendemos comprobar la eficacia de una construcción, desarrollada en nuestro laboratorio, para obtener plantas de *Prunus* resistentes a la agalla de la corona. Para ello utilizaremos un protocolo de transformación muy eficiente desarrollado para semillas de ciruelo (*Prunus domestica* L.).

La construcción que se ha diseñado en nuestro laboratorio induce la formación de hairpin ARN para silenciar los genes de *Agrobacterium* implicados en la síntesis de citoquininas y auxinas (*ipt* e *iaaM*), que son responsables de la formación del tumor. Con esta construcción se han llevado a cabo experimentos de transformación de hipocotilos de semillas de la variedad ‘Claudia Verde’, ‘Stanley’ y ‘Claudia Tolosa’ de ciruelo y se han producido diferentes líneas transgénicas. Para evaluar la resistencia de estas plantas a la agalla de corona se ha establecido un protocolo que consiste en infectar brotes micropropagados *in vitro* de cada línea transgénica de ciruelo y brotes no transgénicos con la cepa oncogénica de *Agrobacterium* C58. Transcurrido un mes se observó la aparición de síntomas o callogénesis. De 15 líneas transgénicas establecidas 6 mostraron síntomas significativamente menores que los observados en los controles (líneas tolerantes). En una de las líneas evaluadas *in vitro* no se observaron síntomas y en otras dos fueron casi inapreciables, lo que indica que podrían ser resistentes a la agalla de la corona.

Keywords: *Prunus domestica* L., crown gall, silenciamiento génico, *ipt*, *iaaM*

INTRODUCCIÓN

Agrobacterium tumefaciens es una bacteria fitopatógena capaz de infectar las plantas a través de heridas. Su infección produce tumores en el tallo de la planta conocidos como “agallas de corona” o “crown gall” en inglés. Esta enfermedad causa graves daños económicos en numerosas especies dicotiledóneas de casi 100 familias, incluyendo los frutales de hueso, vid, rosa y otras plantas ornamentales (De Cleene y De Ley, 1976). La mayoría de las pérdidas causadas por *Agrobacterium spp.* se producen en los viveros, donde se eliminan un gran número de plantas afectadas (Cubero *et al.*, 2006), como ocurre en el caso de los frutales. En árboles con tumores la productividad se ve reducida e incrementa su susceptibilidad a otros patógenos y a estreses medioambientales.

Madrid 2012

La infección de las células vegetales por *Agrobacterium* comporta la transferencia del T-DNA de la bacteria a la célula vegetal, donde se transporta al núcleo y se integra en el genoma vegetal. Dentro de este T-DNA se encuentran dos clases de genes; genes responsables de la síntesis de opinas y oncogenes. Las opinas son derivados de aminoácidos que la bacteria puede utilizar como única fuente de carbono y/o nitrógeno. La expresión de los oncogenes induce sobre-producción de citoquininas y auxinas que resulta en la iniciación de un crecimiento y división celular descontrolada y la formación del tumor (Zhu *et al.*, 2000). Estos oncogenes se conocen como *ipt*, cuyo producto cataliza la condensación de AMP e isopentenil pirofosfato para formar la citoquinina zeatina, *iaaM* que codifica una triptofano monooxigenasa que convierte triptófano al precursor de auxinas indol-3-acetamida que es entonces convertido a ácido indol-3-acético por la acción del producto del tercer oncogén (*iaaH*) presente en el T-DNA, la indol-3-acetamida hidrolasa (Binns y Costantino, 1998). La inactivación del gen *ipt* y cualquiera de los otros dos genes implicados en la biosíntesis de auxinas evita que *Agrobacterium* pueda formar las agallas en los tejidos de la planta (Zhu *et al.*, 2000).

Las estrategias tradicionales de mejora para obtener plantas resistentes han tenido éxito solo en aquellas especies en las que existe germoplasma resistente y, aun así, son necesarias décadas para alcanzar este objetivo. En *Prunus* hay pocos estudios que indiquen la existencia de variedades resistentes (Guzmán *et al.*, 2007) lo que dificulta enormemente su mejora con estrategias tradicionales.

Las estrategias biotecnológicas más eficientes utilizadas hasta la fecha para conferir resistencia a la agalla de corona se basan en la utilización de construcciones que generan hpARNs, silenciando los oncogenes *ipt* e *iaaM*. Las plantas transformadas de tres especies diferentes (*Arabidopsis*, tomate y nogal) resultaron altamente resistentes a la formación de la agalla de corona (Escobar *et al.*, 2002; Escobar *et al.*, 2001). Sin embargo, hasta el momento se han utilizado las secuencias completas de los dos oncogenes, generando T-DNAs de un tamaño considerable. En nuestro grupo se ha diseñado una nueva construcción para silenciar los oncogenes de la bacteria utilizando un transgen quimérico de reducido tamaño y se ha comprobado su efectividad para producir plantas de tabaco resistentes a la agalla de la corona (Alburquerque *et al.*, 2012). Utilizando el protocolo altamente eficiente de transformación de ciruelo (*Prunus domestica* L.) desarrollado por Petri *et al.* (2008), el objetivo de este trabajo es producir plantas de ciruelo resistentes a la enfermedad provocada por *Agrobacterium tumefaciens* con la construcción realizada en nuestro laboratorio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han llevado a cabo experimentos de transformación de hipocotilos de semillas de la variedad ‘Claudia Verde’, ‘Stanley’ y ‘Claudia Tolosa’ de ciruelo (*Prunus domestica* L.) aplicando el protocolo de transformación previamente descrito por Petri *et al.* (2008). Se han producido diferentes líneas transgénicas conteniendo la construcción diseñada para silenciar los oncogenes de *Agrobacterium tumefaciens* (Alburquerque *et al.*, 2012).

Madrid 2012

Se realizó extracción de ADN a partir de 100 mg de hojas de brotes micropropagados *in vitro* de las posibles líneas transgénicas utilizando el protocolo publicado por Doyle y Doyle (1987). La evaluación mediante PCR se llevó a cabo utilizando primers específicos para el transgen *nptII*. El producto de la amplificación del ADN se detectó por electroforesis en un gel de agarosa 1% (p/v) y después de teñir con bromuro de etidio se visualizó bajo luz ultravioleta.

Para evaluar la resistencia de estas plantas a la agalla de corona se ha utilizado un protocolo que consiste en infectar brotes micropropagados *in vitro* de cada línea transgénica de ciruelo y brotes no transgénicos pinchando en el tallo una gota de solución de la cepa oncogénica de *Agrobacterium* C58 con D.O.₆₀₀ = 0,3. Transcurrido un mes se observó la aparición de síntomas o callogénesis. Los síntomas se diferenciaron en tres niveles: 0 o ausencia de callo, 1 o aparición de callo que no supera el diámetro del tallo del brote y 2 cuando el callo desarrollado es más grande que el diámetro del tallo (Figura 1).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Existen antecedentes que demuestran que se pueden silenciar los oncogenes utilizando secuencias de los propios genes de manera que generen ARNs de doble cadena y en forma de pinza (Escobar *et al.*, 2002; Escobar *et al.*, 2001). Asimismo, existen trabajos previos que demuestran que un gen quimérico resultante de la fusión de fragmentos de diferentes genes permite silenciar todos ellos (Bucher *et al.*, 2006). Con la estrategia que se plantea en este trabajo se persigue el silenciamiento simultáneo de los dos oncogenes de *Agrobacterium* cuya expresión en las células de la planta es responsable de la formación de los tumores. Esta construcción se ha evaluado con éxito en tabaco (Alburquerque *et al.*, 2012).

Tras los experimentos de transformación llevados a cabo con material de semillas de las variedades de ciruela ‘Claudia verde’, ‘Stanley’ y ‘Claudia Tolosa’ se aislaron yemas regeneradas en medio que contenía kanamicina como agente selectivo. La presencia del gen de resistencia a aminoglicósidos *nptII* se ha comprobado en aquellas líneas capaces de crecer en medio con 80 mg/L de kanamicina mediante PCR (Figura 2), resultando positiva en todas las líneas analizadas.

De 15 líneas transgénicas establecidas 6 mostraron síntomas significativamente menores que los observados en los controles, siendo consideradas líneas tolerantes. En una de las líneas evaluadas *in vitro* no se observaron síntomas (C103-6), y en otras dos fueron casi inapreciables (CT106-11 y S106-1), lo que indica que podrían ser resistentes a la agalla de la corona (Figura 3).

Se ha indicado que la utilización de construcciones que generan hpARNs incorporando las secuencias en sentido y antisentido de genes separados por un intrón proporcionan un elevado porcentaje de líneas transgénicas en las que se han silenciado esos genes (Wesley *et al.*, 2001). De confirmarse los resultados preliminares tras realizar pruebas moleculares adicionales y evaluar las plantas en el invernadero, podríamos decir que la construcción diseñada en nuestro laboratorio para obtener plantas de ciruelo resistentes a la agalla de la corona es altamente eficiente.

BIBLIOGRAFÍA

- Alburquerque N., Petri C., Faize L., Burgos L. 2012. A short-length single chimerical transgene induces simultaneous silencing of *Agrobacterium* oncogenes and resistance to crown gall. *Plant. Pathol.* (Doi: 10.1111/j.1365-3059.2012.02601.x).
- Binns A.N., Costantino P. 1998. The *Agrobacterium* oncogenes. In: *The Rhizobiaceae: molecular biology of model plant-associated bacteria*. Eds. Spaink, H.P., Kondorosi, A., Hooykaas, P.J.J. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Bucher E., Lohuis D., Van Poppel P.M.J.A., Geerts-Dimitriadou C., Godbach R., Prins M. 2006. Multiple virus resistance at a high frequency using a single transgene construct. *J. General Virol.* 87, 3697-3701.
- Cubero J., Lastra B., Salcedo C.I., Piquer J., López M.M. 2006. Systemic movement of *Agrobacterium tumefaciens* in several plant species. *J. Appl. Microbiol.* 101, 412-421.
- De Cleene M., De Ley J. 1976. The host range of crown gall. *Bot. Rev.* 42, 389-466.
- Doyle JF., Doyle J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bulletin* 19, 11-15.
- Escobar M.A., Civerolo E.L., Summerfelt K.R., Dandekar A.M. 2001. RNAi-mediated oncogene silencing confers resistance to crown gall tumorigenesis. *PNAS.* 98, 13437-13442.
- Escobar M.A., Leslie C.A., McGranahan G.H., Dandekar A.M. 2002. Silencing crown gall disease in walnut (*Juglans regia* L.). *Plant Sci.* 163, 591-597.
- Guzmán G., Latorre B.A., Torres R., Wilcox W.F.(2007. Relative susceptibility of peach rootstocks to crown gall and Phytophthora root and crown rot in Chile. *Ciencia e Investigación Agraria* 34, 23-32.
- Petri C., Webb K., Hily J.M., Dardick C., Scorza R. 2008. High transformation efficiency in plum (*Prunus domestica* L.): a new tool for functional genomics studies in *Prunus* spp. *Mol. Breed.* 22, 581-591.
- Wesley S.V., Helliwell C.A., Smith N.A., Wang M.B., Rouse D.T., Liu Q., Gooding P.S., Singh S.P., Abbott D., Stoutjesdijk P.A., Robinson S.P., Gleave A.P., Green A.G., Waterhouse P.M. 2001. Construct design for efficient, effective and high-throughput gene silencing in plants. *Plant J.* 27, 581-590.
- Zhu J., Oger P.M., Schrammeijer B., Hooykaas P.J.J., Farrand S.K., Winans S.C. 2000. The bases of crown gall tumorigenesis. *J. Bact.* 182, 3885-3895.



Figura 1. Detalle de los síntomas observados en tallos de brotes de ciruelo micropropagados transcurrido un mes desde su infección con *Agrobacterium tumefaciens* cepa C58. A. Nivel de síntomas 0. B. Nivel de síntomas 1. C. Nivel de síntomas 2.

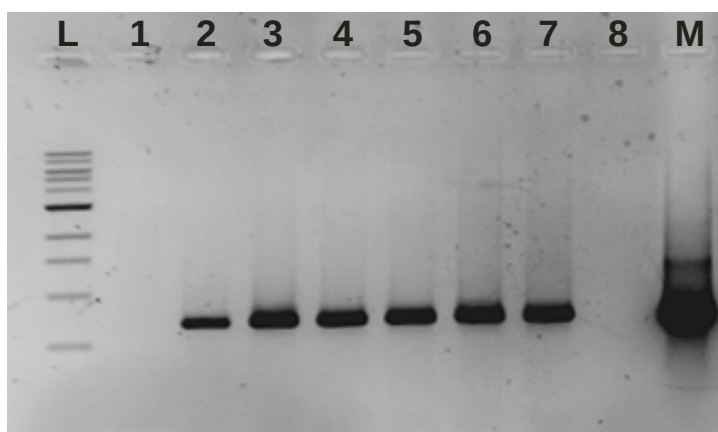


Figura 2. Amplificación mediante PCR de un fragmento del gen *nptII* (700 pb) presente en plantas de ciruelo transformadas. Calle 1: control negativo, calles 2-7: diferentes líneas de ciruelo transgénicas, calle 8: agua, M: marcador molecular de ADN 1000 pb, P: control positivo.

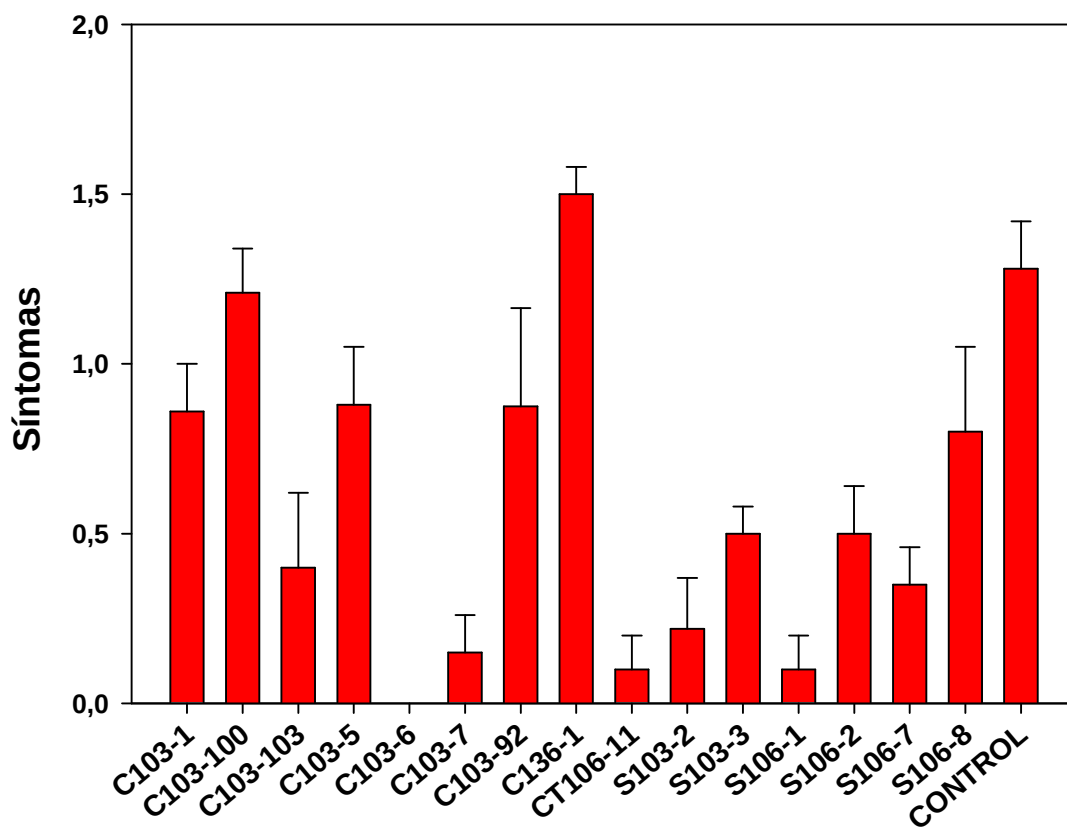


Figura 3. Síntomas (0-3) observados en tallos de brotes micropropagados *in vitro* de plantas de ciruelo tras 4 semanas desde su infección con la cepa oncogénica de *Agrobacterium tumefaciens* C58.

Madrid 2012

ASPECTOS FISIOLÓGICOS EN LA VARIABILIDAD GENOTÍPICA DE CIRUELAS AMARILLAS Y PÚRPURAS.

Castillo, S.¹, Serrano, M.², Valero, D.¹, Zapata, P.J.¹, Guillen, F.¹, Valverde, J.M.¹, Martínez-Romero, D.¹, Díaz-Mula H.M.².

¹Dep. Tecnología Agroalimentaria, ²Dep. Biología Aplicada. Universidad Miguel Hernández. EPSO. Ctra. Beniel km. 3.2, 03312, Orihuela, (Alicante), España. e-mail: scastillo@umh.es

Resumen

Las ciruelas (*Prunus salicina* L) ocupan un importante lugar en cuanto a producción y comercialización, no sólo en España sino en todo el mundo. La aceptación por parte del consumidor de la fruta viene dada por parámetros físico-químicos como el color, la firmeza, los sólidos solubles o la acidez, siendo todos estos parámetros dependientes de la variedad. En este trabajo se exponen los resultados obtenidos al evaluar estos parámetros de calidad en ocho variedades de ciruelas 4 blancas (“Golden Japan”, “Golden Globe”, “Songold” y “TC Sun”) y 4 púrpuras (“Angeleno”, “Black Amber”, “Black Diamond”, y “Larry Ann”) a lo largo de su desarrollo en el árbol hasta el momento de maduración comercial. Los resultados muestran que las ciruelas presentan características bien diferenciadas entre ellas. El tiempo de desarrollo de las ciruelas, desde el cuaje hasta la recolección, varía desde 120 días para “Golden Japan” hasta los 192 días de “Angeleno”, siendo las variedades “Songold” y “Black Amber” las que alcanzan mayor peso (148.5g y 120.1g), mientras que “Golden Japan” es la variedad más pequeña (59.9 g). El índice que mejor expresa los cambios de color a lo largo de la maduración en árbol Hue*, mostrando gran variación entre las amarillas y las púrpuras, en cuanto al color externo e interno, aunque en todos los casos el color Hue* disminuyó durante la maduración, aunque el descenso más acentuado se produjo en “Black Diamond”, hasta niveles próximos a 20, frente a valores de 70-90 en las demás variedades. La textura sufre un máximo en la segunda fase de crecimiento, debido a la lignificación del hueso, y un descenso paulatino a partir de aquí con valores que van a depender mucho de la variedad y del momento de la recolección. El índice de madurez también es otro factor importante y característico para cada una de la variedades en el momento de la recolección, con variaciones que van desde de 6.6 en “Golden Japan”, hasta 21.3 en “Golden Globe”. La aceptación por parte del consumidor viene dada por parámetros físico-químicos como el color, la firmeza, los sólidos solubles o su acidez, siendo todos estos parámetros dependientes de la variedad, y por tanto la calidad organoléptica de la ciruela vendrá dada por las características genéticas de las variedades estudiadas.

Palabras clave: Ciruela, crecimiento y desarrollo del fruto en árbol, cultivar, color, textura, SST, acidez, peso.

INTRODUCCIÓN

Fruto del ciruelo es uno de los productos más importantes en todo el mundo consumen debido a su grado de aceptación por los consumidores. Para las ciruelas y otros frutos del género *Prunus*, el grado de aceptación de los consumidores depende de las propiedades organolépticas, como el color, la textura, el sabor y aroma, que varían

Madrid 2012

entre los cultivares y las zonas de producción y de estación a estación. Hay unos pocos artículos que describen los cambios relacionados con el desarrollo y la maduración de los frutos de ciruelas en el árbol, tales como cambios de color, ablandamiento, la acumulación de sólidos solubles y disminución de la acidez etc.

Así, el objetivo de esta investigación fue analizar los cambios que se producen en el desarrollo de los frutos en sus propiedades físico-químicas y de sus tasas de producción de etileno y de respiración durante el desarrollo, así como en las propiedades organolépticas, en ocho cultivares de ciruela, con el fin de establecer la fecha de cosecha óptima.

MATERIALES Y METODOS

El experimento se llevó a cabo durante el ciclo de desarrollo del 2007 período primavera-verano. En una parcela comercial ubicada en "Finca Los Frutales" (Villena, Alicante, España), se emplearon ocho variedades diferentes de árboles de ciruela de 15 años de edad, seleccionándose cuatro de piel amarilla ("Golden Japan", "Golden Globe", 'Songold' y "TC Sun") y cuatro de piel púrpura ("Angeleno", "Black Amber", "Black Diamond", y "Larry Ann"). Para cada uno de los cultivares inmediatamente después de la fructificación, se seleccionaron tres árboles, y se etiquetaron 10 frutos, sobre estos frutos marcadas se evaluó el crecimiento. La fecha de recolección comercial (R) para cada cultivar se determinó de acuerdo con el Técnico de la Compañía, además las frutas también se mantuvieron en árbol una semana más (R + 1).

Durante el desarrollo a intervalos de 7 días se de muestreo los frutos marcados y se seleccionaron 30 frutos similares a los etiquetados y se transportaron inmediatamente al laboratorio para análisis posteriores. Determinándose el peso, volumen, firmeza y color (piel y carne). Luego, para cada fecha de muestreo y cultivar, cinco submuestras de seis frutas se tomaron al azar para determinar el etileno y la tasa de respiración. La producción de etileno se midió con un sistema estático y se cuantifico usando un HP 5890A cromatógrafo de gases (Hewlett-Packard, Wilmington, DE, EE.UU.)

El peso del fruto se determinó utilizando un ST-360Gram Balanza de precisión digital (Barcelona, España). Firmeza de la fruta se midió usando un medidor de textura TX-XT2i (Stable Microsystems, Godalming, Reino Unido) personal, con una placa de acero plana montada en la máquina. Para cada fruto se midió el diámetro y luego se aplicó fuerza que consigue el 3% de deformación del diámetro del fruto. Los resultados se expresaron como la relación entre esta fuerza y la distancia recorrida ($N\ mm^{-1}$). Para el color se realizó tres determinaciones por fruto utilizando el sistema CIE L^* , a^* , b^* en un colorímetro Minolta CR200 (Minolta Camera Co., Osaka, Japón). Obtenidos los parámetros L^* , a^* y b^* se expresó como ángulo de matiz ($Hue = \tan^{-1}(b/a)$). Contenido de sólidos solubles totales (SST) se determinó por duplicado utilizando un refractómetro digital Atago PR-101 (Atago Co. Ltd, Tokio, Japón) a 20 ° C. Los resultados se expresaron como $g\ kg^{-1}$. El pH y su acidez titulable (AT) se determinó mediante valoración potenciométrica con 0,1 mol L^{-1} de NaOH hasta pH 8,1, usando 1 ml de jugo diluido en 25 ml de agua destilada. Los resultados se expresaron como g de ácido málico equivalente kg^{-1} .

Análisis estadístico, todos los datos se sometieron al análisis de varianza (ANOVA), siendo las fuentes de variación la variedad y el estado de desarrollo. La

Madrid 2012

comparación de las medias se realizó mediante el test múltiple de Duncan, siendo las diferencias significativas para $p < 0.05$. Todos los análisis se realizaron con el software SPSS v. 12.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de la floración aproximadamente a los 40 días después de esta, se comenzó la toma de datos de los parámetros relacionados con el crecimiento del fruto y cambios en los parámetros fisiológicos y fisicoquímicos de todas las variedades de ciruela durante su desarrollo y maduración en árbol. El tiempo de desarrollo de los frutos aunque tienen fechas de plena floración muy cercas entre cultivares (de 2 al 14 marzo), la fecha recolección o maduración comercial difieren mucho entre cultivares, varió entre 112 días para “Golden Japan” y 185 días para “Angelino”. Durante este periodo los cambios producidos fueron importantes, como ejemplo, en la Figura 1 se muestra la evolución de distintos parámetros relacionados con el desarrollo del fruto para el caso de “Golden Globe”.

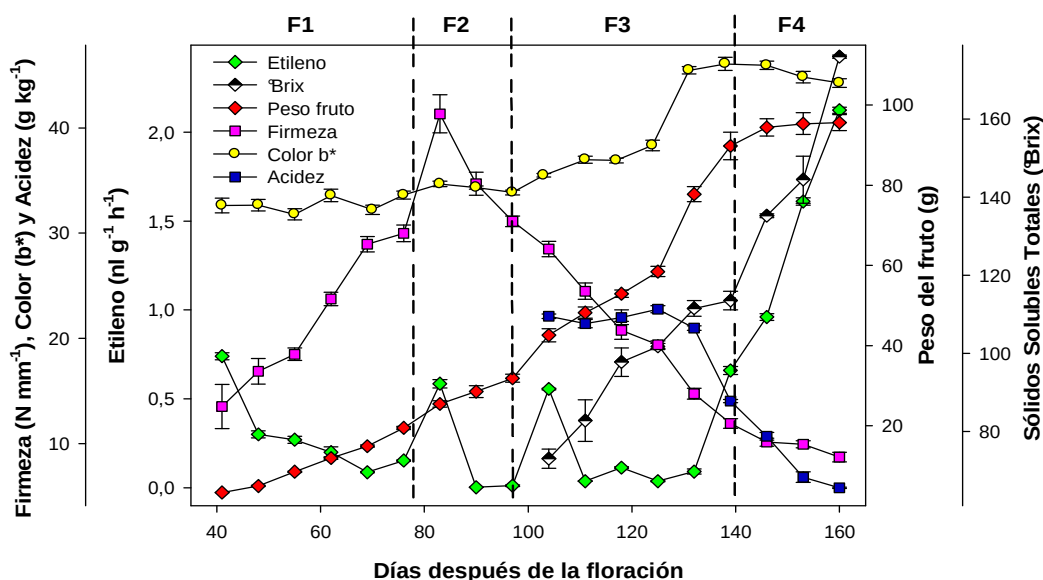


Figura 1. Evolución de parámetros físicos, químicos y fisiológicos durante el desarrollo y maduración del fruto en el árbol de la variedad de ciruela “Golden Globe” durante las diferentes fases de crecimiento, F1 a F4 indican las etapas de desarrollo de acuerdo con la evolución del peso de la fruta. Los datos son la media $\pm$ error estándar.

De los parámetros relacionados con el crecimiento del fruto, en este periodo, se observa que en todas las variedades siguieron un patrón de doble sigmoide mas o menos pronunciada según la variedad lo cual es típico para las especies de *Prunus*, en el que pueden distinguir cuatro etapas distintas (F1-F4) (Figura 1) estableciéndose de acuerdo con la evolución del peso del fruto o desarrollo del fruto. F1 es la primera fase de un crecimiento exponencial y se caracterizan por la división celular y elongación de éstas. F2 muestra un menor crecimiento o nulo del fruto, pero el endocarpio se endurece para formar una hueso sólido, por lo que la textura sufre un máximo en la segunda fase de crecimiento, debido a la lignificación del hueso, y un descenso paulatino a partir de aquí con valores finales que van a depender mucho de la variedad y del momento de la recolección. F3 sería la segunda fase de crecimiento exponencial debido al crecimiento

Madrid 2012

en tamaño de las células, mientras que en el F4 es la etapa de maduración de la fruta o etapa climatérica (El-Sharkawy *et al.*, 2007).

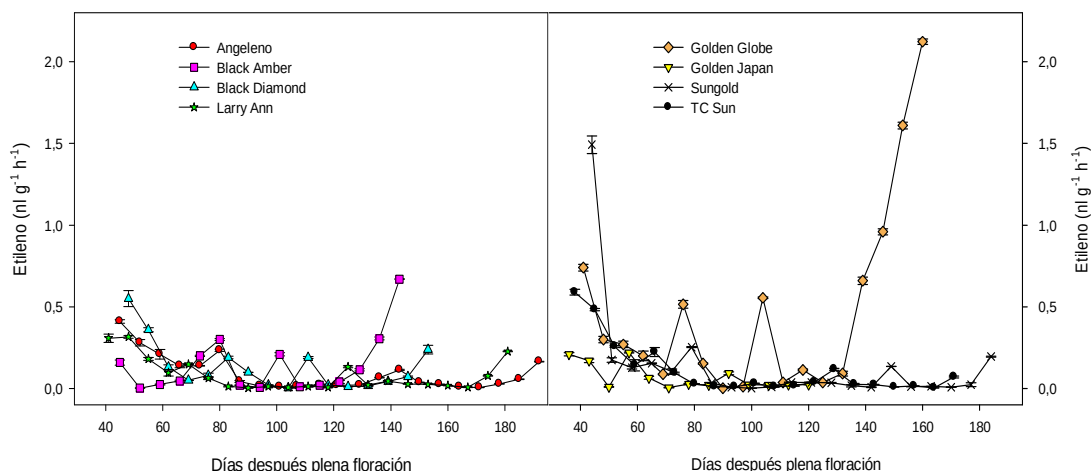


Figura 2. Evolución de los niveles de etileno, durante el desarrollo y maduración del fruto en el árbol de ocho variedades de ciruela. Los datos son la media $\pm$ error estándar.

Durante el desarrollo se ha observado que al comienzo de cada fase se detectó la aparición de picos de etileno, siendo su papel fisiológico marcadamente diferente en cada etapa. Así, el aumento de etileno en F1 está asociado con la división celular, en F2 la estimulación de la síntesis de la lignina en el hueso mediante el aumento de la actividad de la fenilalanina amonio liasa (PAL), en F3 asociados a los cambios de color y en F4 con la producción de etileno produciendo el climaterio en los frutos. Esto confirma el patrón de maduración climatérico para la mayoría de los cultivares de ciruelo y el papel de etileno como la hormona de la planta responsable de la aceleración de los cambios fisicoquímicos durante la maduración de la fruta (Fernández-Otero *et al.*, 2006; Giovanonni *et al.*, 2001; Valero *et al.*, 2003).

Sin embargo, no se encontró ningún aumento en la producción de etileno climatérico en “Golden Japan” durante la fase F4 (Figura 2), lo que confirma otros trabajos en los que este cultivar se ha descrito como de climaterio suprimido, tanto durante el desarrollo en árbol como en almacenamiento poscosecha (Martínez-Romero *et al.*, 2003), al igual que los cultivares “Shiro” y “Rubyred”, (Abdi *et al.*, 1997), mientras que en el resto de ciruelas estudiadas se observa un ligero aumento de la producción de etileno en este periodo, siendo “Golden Globe” la de mayor producción de etileno en esta fase. A nivel transcripcional, tales diferencias dentro de cultivares de ciruelo se han atribuido a diferencias en los patrones de acumulación de mRNAs implicados en la percepción de etileno y en la transducción de señales (El-Sharkawy *et al.*, 2006).

Con fines comparativos, el índice que mejor expresa los cambios de color a lo largo de la maduración en árbol fue el ángulo Hue* o tono, siendo el que mejor muestra los cambios tanto en la parte externa (piel) como en la pulpa, durante la maduración del fruto. Para todos los cultivares, ángulo Hue* externo se mantuvo alto (120-115°) entre las etapas F1 y el comienzo de F3, lo que significa que las ciruelas tenían un color verde oscuro. A partir de este momento, el ángulo Hue de la piel descendió, aunque en los cultivares amarillos el descenso fue menor (70-100) y disminuyó drásticamente en los cultivares de color púrpura / negro (2-17) (Figura 4). En cuanto al color interno existió

Madrid 2012

también una disminución y fue más acentuada en “Black Diamond”, alcanzando valores de 20 en la etapa de maduración, lo que indica una carne púrpura, mientras que las otras variedades de piel color púrpura oscuro, así como las amarillas, tenían mayores valores de ángulo Hue, debido a su pulpa de color naranja / amarillo.

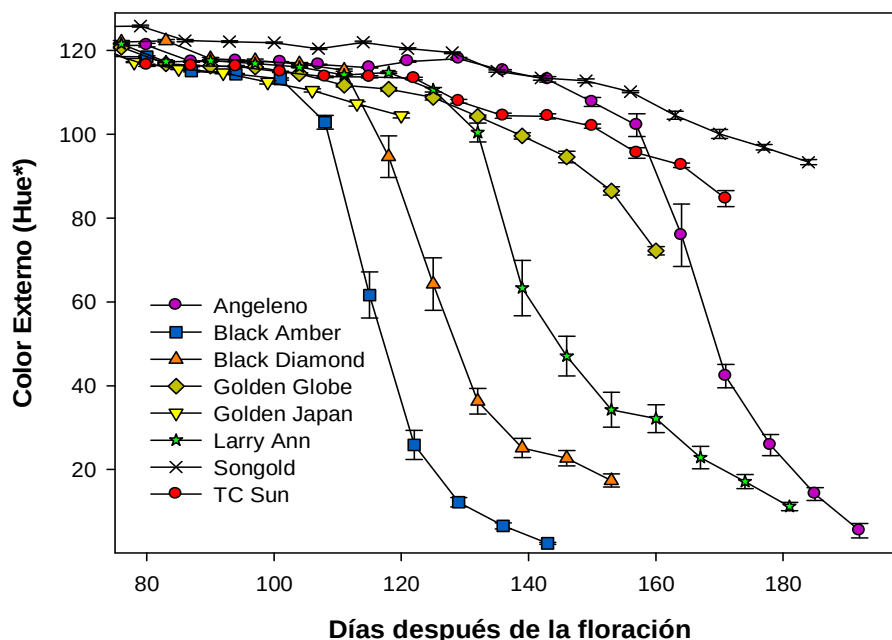


Figura 3. Evolución del color externo (ángulo Hue*) durante el desarrollo y maduración del fruto en el árbol de ocho cultivares de ciruelo. Los datos son la media $\pm$ error estándar.

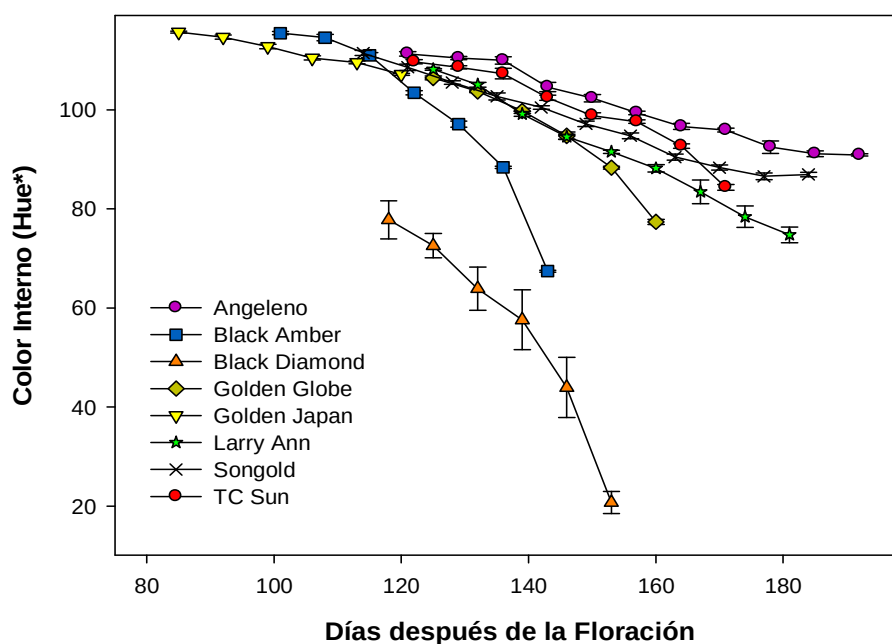


Figura 4. Evolución del color de la pulpa (ángulo Hue*) durante el desarrollo y maduración del fruto en el árbol de ocho cultivares de ciruelo. Los datos son la media $\pm$ error estándar.

Madrid 2012

Además, el peso de la fruta durante la recolección comercial (R) (Tabla 1) era cultivar-dependiente con diferencias entre cultivares y no se encontraron diferencias significativas en cuanto los frutos se mantuvieron una semana más en el árbol (R + 1).

Tabla 1. Valores de los pesos de las 8 variedades de ciruelas en el momento de la recolección comercial Los datos son la media $\pm$ error estándar.

Variedad (púrpura)	Peso (g)	Variedad (amarilla)	Peso (g)
Black Amber	117,4 $\pm$ 1,3	Golden Japan	59,2 $\pm$ 1,7
Black Diamond	119,5 $\pm$ 2,5	Golden Globe	95,4 $\pm$ 2,7
Larry Ann	97,1 $\pm$ 4,3	TC Sun	113,8 $\pm$ 3,1
Angeleno	89,0 $\pm$ 2,0	Sungold	148,4 $\pm$ 4,9

En cuanto a los cambios en SST y la AT que se produjeron entre cultivares se pueden ver en las Figura 5 y 6, Los cambios comienzan en la F4 hasta el momento de la recolección con una disminución de la acidez, de valores de 1,6 $\pm$ 0,01 en Golden Japan hasta 0,68 $\pm$ 0,05 en “Golden Globe” y un aumento de los SST de 10,6 $\pm$ 0,1 en Golden Japan, hasta 15,8 $\pm$ 0,1 en “TC Sun”. Los valores finales que están dentro de los rangos encontrados para otros tipos de ciruelas, (Crisosto *et al.*, 2004; Crisosto *et al.*, 2007; Guerra *et al.*, 2008; Murray *et al.*, 2005). Sin embargo, no hay relación entre la TSS o TA y la temporada de cosecha se pueden establecer, aunque hay una tendencia de las ciruelas de principio de temporada a tener menores SST que las ciruelas de fin de temporada o tardías, (Crisosto *et al.*, 2007) para los consumidores los niveles de SST en ciruelas tienen especial importancia para la aceptabilidad, desde SST se ha correlacionado con la percepción de dulzor, sabor y aroma. En este sentido, ciruelas cosechadas en R + 1 sería más apreciadas por los consumidores, ya que mayores niveles de SST y menor de AT se logró un IM en todas las variedades estudiadas (Figura 7). Siendo el índice de madurez también otro facto importante y característico para cada una de la variedades en el momento de la recolección, con variaciones que van desde de 6,6 en “Golden Japan”, hasta 21,3 en “Golden Globe” en el momento de la recolección (R) y una semana mas en el retraso de la recolección (R+1) estos Índices de Maduración se ven incrementados notablemente.

Madrid 2012

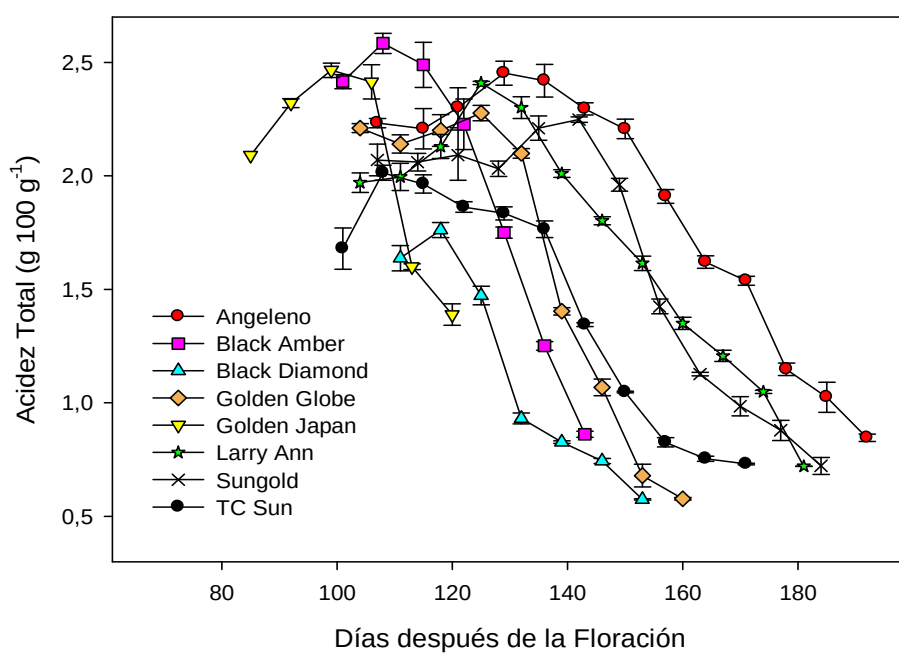


Figura 5. Evolución de la Acidez Total (g kg⁻¹) durante el desarrollo y maduración del fruto en el árbol de ocho cultivares de ciruelo. Los datos son la media $\pm$ error estándar.

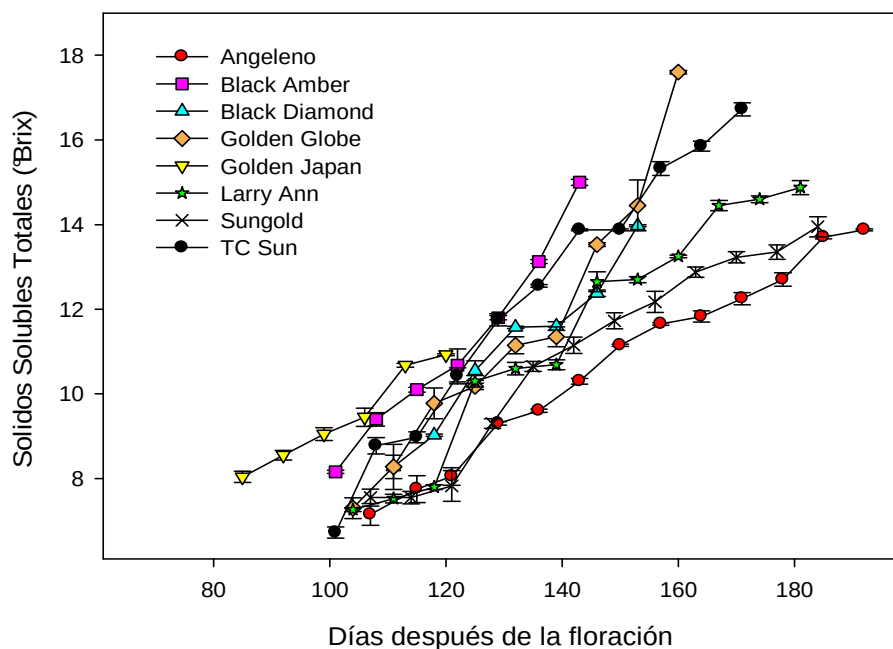


Figura 6. Evolución de los Sólidos solubles Totales (°Brix) durante el desarrollo y maduración del fruto en el árbol de ocho cultivares de ciruelo. Los datos son la media $\pm$ error estándar.

Madrid 2012

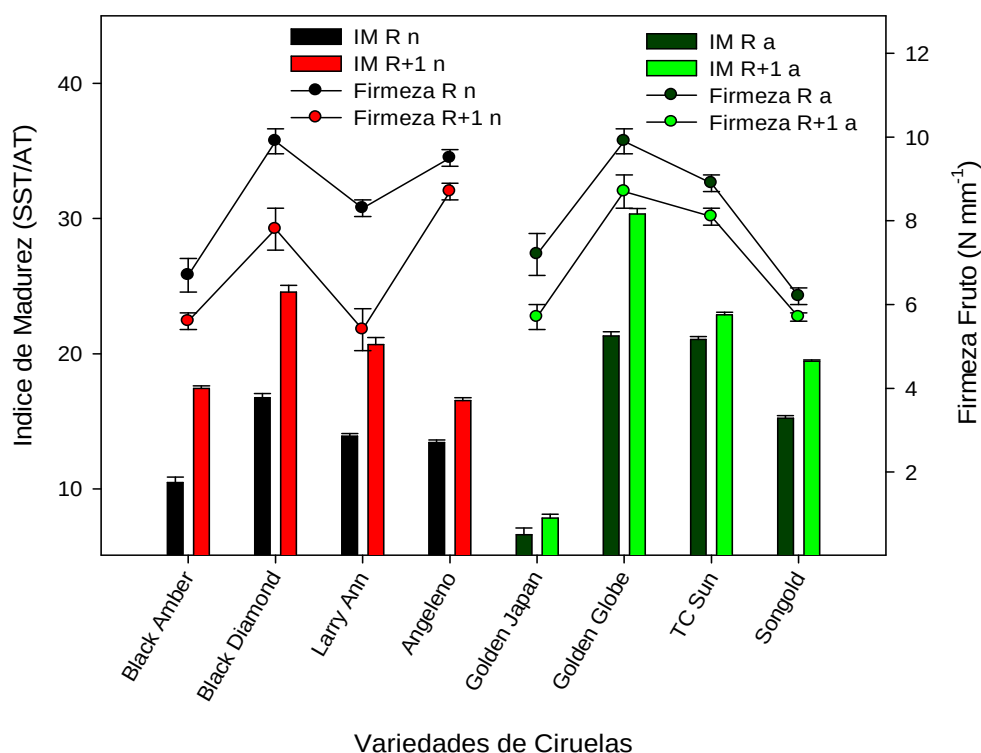


Figura 7. Índice de Madurez y Firmeza de la fruta en la fecha de recolección comercial (R) y después de 1 semana de maduración en árbol (R + 1) para los ocho cultivares de ciruelo. Los datos son la media $\pm$ error estándar.

Asociados a estos parámetros de calidad esta la firmeza de los frutos en el momento de la recolección, en la Figura 7 vemos como la firmeza difiere para cada variedad y en el momento de la recolección siendo esta mayor en el momento de recolección comercial y una semana posterior, aunque mejora la calidad organoléptica se nota la disminución de la firmeza en el fruto, de forma general, encontrando que las variedades con menor diferencia de firmeza con el retraso de la recolección son las variedades “Angeleno” y “Songold”.

El análisis del desarrollo en árbol de distintas variedades de ciruela amarilla y púrpura, cultivadas bajo las mismas condiciones ambientales y sometidas a las mismas prácticas culturales, revela diferencias en los parámetros de desarrollo fisiológico propiedades físico químicas y calidad organoléptica final entre las variedades de ciruelas, diferencias que se deben a las características genéticas de cada variedad y que muestran la elevada biodiversidad entre las variedades

AGRADECIMIENTOS.

Este Trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia y tecnología (Proyecto AGL2006 04359/ALI y por la Comisión Europea, Fondos FEDER). Huertas Beca Pre-Doctoral (BES-2007-15415) del Ministerio de Educación y Ciencia a Huertas María Díaz Mula. Los autores agradecen a la empresa “Finca JM Los Frutales” el material.

Madrid 2012

REFERENCIAS

- Abdi N, Holford P, McGlasson, WB.; Mizrahi Y. 1997. Ripening behaviour and responses to propylene in four cultivars of Japanese type plums. *Postharvest Biol. Technol* 12: 21–34
- Crisosto CH, Crisosto GM, Echeverría G.; Puy, J. 2006. Segregation of peach and nectarine (*Prunus persica* (L.) Batsch) cultivars according to their organoleptic characteristics. *Postharvest Biol. Technol.* 39: 10–18
- Crisosto, CH.; Garner, D.; Crisosto GM.; Bowerman, E. 2004. Increasing ‘Blackamber’ plum (*Prunus salicina* Lindell.) consumer acceptance. *Postharvest Biol Technol* 34: 237–244
- Crisosto, GM.;Crisosto CH.; Echeverría G.; Puy, J. 2007. Segregation of plum and pluot cultivars according to their organoleptic characteristics. *Postharv Biol. Technol.* 44: 271–276
- El-Sharkawy, I.; Kim WS.; El-Kereamy, A.; Jayasankar, S.; Svircev, AM.;Brown, DCW. 2007. Isolation and characterization of four ethylene signals transduction elements in plums (*Prunus salicina* L.). *J. Exp. Bot.* 58: 3631–3643.
- El-Sharkawy, I.; Kim, WS.; El-Kereamy, A.; Jayasankar, S.; Svircev, AM.; Brown, DCW. 2007. Isolation and characterization of four ethylene signals transduction elements in plums (*Prunus salicina* L.). *J Exp. Bot.* 58: 3631–3643.
- Fernández-Otero, CI.; Matilla AJ.; Rasori, A.; Ramina A.; Bonghi, C. 2006. Regulation of ethylene biosynthesis in reproductive organs of damson plum (*Prunus domestica* L. subsp. *Syriaca*). *Plant Sci.* 171: 74–83
- Giovanonni, J. 2001. Molecular biology of fruit maturation and ripening. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44: 139–154.
- Guerra, M.; Casquero, PA. 2008. Effect of harvest date on cold storage and postharvest quality of plum cv. Green Gage. *Postharv Biol. Technol.* 47: 325–332.
- Martínez-Romero, D.; Dupille, E.; Guillén, F.; Valverde, JM.; Serrano, M. 2003. 1-Methylcyclopropene increases storability and shelf life in climacteric and nonclimacteric plums. *J. Agric. Food Chem.* 51: 4680–4686
- Murray, XJ.; Holcroft, DM.; Cook, NC.; Wand, SJE. 2005. Postharvest quality of ‘Laetitia’ and ‘Songold’ (*Prunus salicina* Lindell.) plums as affected by preharvest shading treatments. *Postharvest Biol. Technol.* 37: 81–92.
- Valero, D.; Martínez-Romero, D.; Valverde, JM.; Guillén, F.; Serrano, M. 2003. Quality improvement and extension of shelf life by 1-methylcyclopropene in plum as affected by ripening stage at harvest. *Innovat. Food Sci. Emerg. Technol.* 4: 339–348.

Madrid 2012

Madrid 2012

EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DURANTE EL DESARROLLO DE LA CEREZA EN EL ÁRBOL: DIFERENCIAS ENTRE VARIEDADES.

Díaz-Mula H.M.¹; Valero, D.¹; Castillo, S.¹; Martínez-Romero, D.¹; Zapata, P.J.¹; Guillen, F.¹; Valverde, J.M.¹ y Serrano, M.²

¹ Food technology Department, UMH, Ctra Beniel km 3.2 03312, Orihuela (Alicante) Spain. e-mail: h.diaz@umh.es

² Applied Biology Department, UMH, Ctra Beniel km 3.2 03312, Orihuela (Alicante) Spain

Resumen

En este trabajo se exponen los resultados obtenidos al evaluar parámetros de calidad en once variedades de cereza a lo largo de su desarrollo en árbol hasta el momento de maduración comercial. El tiempo de desarrollo de la cereza, desde el cuaje a la recolección, varía en intervalos desde 57 a 83 días. Las variedades Nº 57, Prime Giant y Sun Burst son las que alcanzan mayor peso (13.5-14.0 g), mientras que Picota y Sweet Heart son las variedades más pequeñas (9.0-9.5 g). El índice que mejor expresa los cambios de color a lo largo de la maduración en árbol es a^*/b^* , con valores finales desde 3.07 ± 0.03 en “Brooks” hasta 7.23 ± 0.14 en “Cristalina”. La textura sufre un máximo en la segunda fase de crecimiento, debido a la lignificación del hueso, y un descenso paulatino a partir de aquí con valores finales de 1.85 ± 0.1 N/mm para “Nº 57” y 3.15 ± 0.12 N/mm de la variedad “Sweetheart”. Los SST rondan los 18 grados brix mientras que la acidez varía desde 0.75 ± 0.02 g/100g de “Brooks” hasta los 1.25 ± 0.03 g/100g de NY-6479. La aceptación por parte del consumidor viene dada por parámetros físico-químicos como el color, la firmeza, los sólidos solubles o su acidez, siendo todos estos parámetros dependientes de la variedad, como ha quedado patente en el estudio. Por tanto la calidad organoléptica de la cereza vendrá dada por las características genéticas de la variedad estudiada.

Palabras clave: Cereza, variedad, calidad organoléptica, crecimiento en árbol, color, textura, SST, acidez, peso

INTRODUCCIÓN

La cereza es un fruto encuadrado en el género *Prunus*, dentro la familia Rosaceae, al que pertenecen cientos de especies que son cultivadas en las zonas templadas de todo el mundo. Es uno de los frutos más apreciados por los consumidores, siendo en el hemisferio norte uno de los primeros frutos de temporada, y con un contenido importante de nutrientes y compuestos bioactivos (Mozetić *et al.*, 2004). En Europa es uno de los pocos cultivos de los que no se registran excedentes (Esti *et al.*, 2002) estando su producción limitada por condiciones ambientales. En muchas de las áreas de producción europeas el comienzo del periodo de lluvias coincide con el momento de la recolección, ocasionando cuantiosas pérdidas económicas al sector. Por esta razón es frecuente la recolección prematura de frutos, presentando estos un tamaño insuficiente, un color moderado y un bajo contenido de sólidos solubles (Usenik *et al.*, 2005).

Madrid 2012

El desarrollo de nuevas variedades ha crecido enormemente en los últimos años, en parte para dar solución a este problema y suplir el mercado de producto durante un mayor intervalo de tiempo. “Lapins” fue una de las primeras variedades en ganar presencia a mediados de los años 90, seguida de “Sweetheart”, “Chelan”, “Tieton” y otras tantas más que a lo largo de estas décadas han ampliado el periodo de recolección de cereza.

Siendo la cereza un fruto tan apreciado por el consumidor la calidad de partida es muy importante a la hora de su comercialización y es dependiente de los valores que alcancen los parámetros de calidad en el momento de la recolección, así como el manejo adecuado del producto. Los atributos más apreciados por los consumidores con el color, la firmeza, el tamaño y la acidez (Crisosto *et al.*, 2003; Romano *et al.*, 2006). Es por esto que la caracterización de variedades se hace una herramienta muy útil a la hora de seleccionar un producto final con la mayor calidad posible.

El objetivo de este trabajo ha sido seguir la evolución a lo largo del desarrollo en árbol de 11 variedades de cereza y obtener valores de propiedades fisicoquímicas que determinan la calidad de cereza en el momento de la recolección comercial.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se llevo a cabo durante el ciclo de producción de la primavera de 2007, en una finca comercial situada en Villena (los Frutales, Alicante). Justo después del cuaje se marcaron en tres arboles de cada una de las 11 variedades un total de 30 frutos (10 por árbol) para seguir la evolución de los distintos parámetros a lo largo de la maduración. Cada 3 o 4 días se realizaron las mediciones y se recogieron muestras de frutos similares a aquellos marcados para realizar las determinaciones destructivas en el laboratorio. La recolección comercial de cada variedad se determino de acuerdo a los criterios técnicos de la empresa.

Análisis de los parámetros de calidad organoléptica.

El volumen se determina mediante la medición de los tres diámetros del fruto en cada una de las cerezas marcadas. El peso, el color y la firmeza se determinaron individualmente en cada cereza. Los últimos 5 muestreos, cuando el fruto alcanzó un tamaño adecuado, la mitad de cada cereza de cada uno de los lotes se utilizó para la obtención de zumo en el cual se analizaron de los sólidos solubles totales (SST) y la acidez total (AT) por duplicado. Los resultados se expresan como la media $\pm$ ES de gramos de equivalentes de ácido málico por 100 gramos de peso fresco. Todos los métodos están descritos en Serrano *et al.* (2009).

Análisis estadístico

La todos los datos se sometieron al análisis de varianza (ANOVA), siendo las fuentes de variación la variedad y el estado de desarrollo. La comparación de las medias se realizó mediante el test múltiple de Duncan, siendo las diferencias significativas para $p < 0.05$. Todos los análisis se realizaron con el software SPSS v. 12.0.

Madrid 2012

RESULTADOS Y DISCUSION.

Las variedades elegidas para este trabajo localizaron en la misma finca, bajo las mismas condiciones ambientales, prácticas culturales e incluso mismo patrón, por lo que las diferencias entre los parámetros analizados sólo se deben a la influencia de las características genéticas de cada variedad.

El tiempo de desarrollo desde el cuaje a la recolección es muy dependiente de la variedad, desde los 57 días para “Sunburst” hasta los 83 días que necesita la variedad “Prime Giant” en alcanzar la madurez comercial. En las curvas de crecimiento de volumen (Fig. 1) se puede observar la segunda fase de la curva doble sigmoide característica del crecimiento de los frutos de hueso. La fase de crecimiento rápido se inicia entre los 30 y 50 días desde la floración y su duración oscila entre 20 y 30 días, dependiendo de la variedad. La curva de crecimiento del hueso es diferente (datos no mostrados), ya que éste alcanza su peso máximo antes de que se inicie la fase de crecimiento rápido y es bastante parecido en todas las variedades (0.60-0.70 g). Las variedades Nº 57, Prime Giant y Sun Burst son las que alcanzan mayor peso (13.5-14.0 g), mientras que Picota y Sweet Heart son las variedades más pequeñas (9.0-9.5 g).

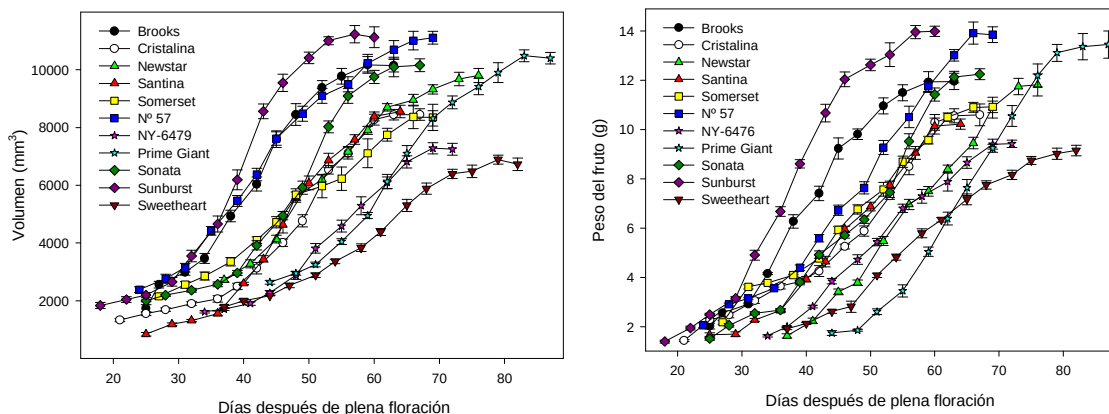


Figura 1 Evolución del volumen y peso de la cereza durante su desarrollo y maduración en el árbol. Los datos son la media $\pm$ ES (n=30).

El color es uno de los atributos más importantes en la calidad de cereza, siendo además correlacionado con la concentración de compuestos bioactivos, sobre todo fenoles (Díaz-Mula *et al.*, 2009) y estos a su vez correlacionados con la mayor calidad y aceptación del consumidor (Tomás-Barberán *et al.*, 2001). El índice de color que mejor representa las variaciones de color a lo largo de la maduración en árbol de la cereza es a^*/b^* , ya que muestra una continua evolución hasta el último muestreo.

Madrid 2012

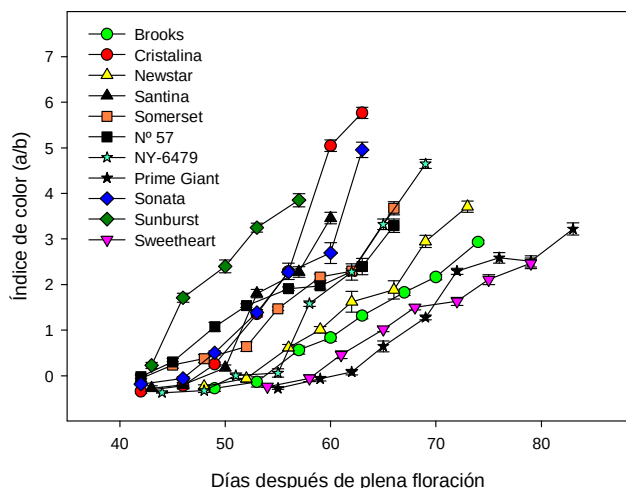


Figura 2. Evolución del índice de color (a^*/b^*) en once variedades de cereza a lo largo de la maduración en árbol. Datos son la media $\pm$ ES ($n=30$).

Se observa que el color es claramente dependiente de la variedad, con valores finales desde 3.07 ± 0.03 en “Brooks” hasta 7.23 ± 0.14 en “Cristalina”. Según Kappel *et al.* (1996) el color ideal para una cereza debería tener una puntuación de 5 en la escala CITLF (escala utilizada por la industria del Centro Técnico Interprofesional de frutas y legumbres). Los valores medios se corresponden con este valor, siendo los de “Brooks” y “Cristalina” correspondientes a un rojo brillante (escala 3) y un rojo oscuro (escala 5) respectivamente.

Como ejemplo de la evolución del resto de parámetros se presentan en la Figura 3 los resultados obtenidos para la variedad “Sonata”.

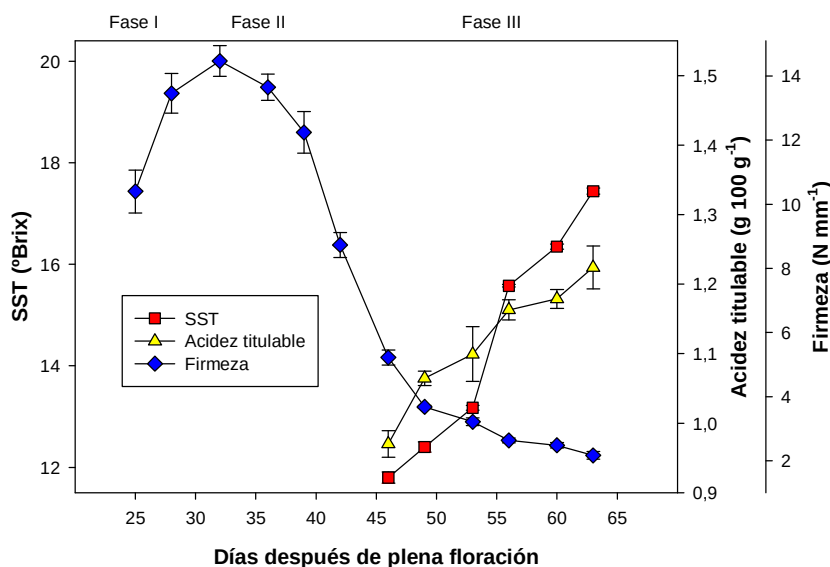


Figura 3. Evolución de los sólidos solubles, acidez titulable y firmeza durante el desarrollo y maduración en árbol de la variedad “Sonata”. Los datos son la media $\pm$ ES de las determinaciones ($n=30$ para firmeza; $n=5$ para acidez y SST).

Madrid 2012

La textura es uno de los atributos más importantes en calidad de cereza siendo muy dependiente de la variedad. Los valores finales obtenidos en el estudio varían desde 1.85 ± 0.1 N/mm para “Nº 57” y los 3.15 ± 0.12 N/mm de la variedad “Sweetheart”, siempre siendo mayores en la segunda fase de crecimiento debido a la lignificación de la semilla (Muskovics *et al.*, 2006), como se muestra en la Figura 2. Diversos autores han encontrado que variedades tardías presentan generalmente mayor firmeza que las variedades tempranas (Chistesén *et al.*, 1995; Esti *et al.*, 2002). El ablandamiento en los últimos días de maduración se ha atribuido a incrementos en la actividad de β -galactosidasa (Girard *et al.*, 2001) a pesar de que en la mayoría de los frutos se debe a la actividad de poligalacturonasa (Batisse *et al.*, 1996).

En cuanto a la acidez y SST se produce un aumento cuando el fruto ha alcanzado el 50% de su volumen final en todas las variedades y de manera similar a como se muestra en “Sonata”, con valores finales dependientes de la variedad (Tabla 1).

Tabla 1. Valores de SST y acidez de 11 variedades de cereza en el momento de recolección comercial. Los datos son la media $\pm$ ES Los datos son la media de las determinaciones (n=5).

Cultivar	Acidez Total	SST (°Brix)
Brooks	0.75 $\pm$ 0.02aA	19.05 $\pm$ 0.21aA
Cristalina	0.85 $\pm$ 0.03aB	17.54 $\pm$ 0.31aB
Newstar	1.21 $\pm$ 0.02aC	18.14 $\pm$ 0.24aC
Santina	0.79 $\pm$ 0.04aA	15.95 $\pm$ 0.15aD
Somerset	0.92 $\pm$ 0.02aBD	17.84 $\pm$ 0.12aB
Nº 57	0.99 $\pm$ 0.02aD	18.55 $\pm$ 0.24aC
NY-6479	1.25 $\pm$ 0.03aC	19.60 $\pm$ 0.06aE
Prime Giant	1.12 $\pm$ 0.01aE	19.55 $\pm$ 0.14aE
Sonata	1.20 $\pm$ 0.03aC	17.44 $\pm$ 0.06aB
Sunburst	0.92 $\pm$ 0.01aB	19.90 $\pm$ 0.12aE
Sweetheart	1.18 $\pm$ 0.03aCE	17.90 $\pm$ 0.20aB

CONCLUSIONES

El análisis del desarrollo en árbol de variedades de cereza, cultivadas bajo las mismas condiciones ambientales y sometidas a las mismas prácticas culturales, revela diferencias en los parámetros de calidad organoléptica entre las variedades de cereza, diferencian que se deben a las características genéticas de cada variedad y que muestran la elevada biodiversidad genética existente entre las variedades de cereza estudiadas.

BIBLIOGRAFIA

Batisse, C., Buret, M., Coulomb, P. J. 1996. Biochemical differences in cell wall of cherry fruit between soft and crisp fruit. *J. Agric. and Food Chem.* **44**: 453-457.

Madrid 2012

- Chistesén, J.V. 1995. Evaluation of fruit characteristics of 20 sweet cherry cultivars. *Fruit Varieties J.* 49: 113-117.
- Crisosto, C.H., Crisosto, G.M., Metheney, P. 2003. Consumer acceptance of 'Brooks' and 'Bing' cherries is mainly dependent on fruit SSC and visual skin color. *Post. Biol. and Technol.*, 28, 159-167.
- Díaz-Mula, H. M., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Valero, D., Zapata, P. J., Guillén, F., Serrano, M. 2009. Sensory, nutritive and functional properties of sweet cherry as affected by cultivar and ripening stage. *Food. Sci. Technol. Int.*, 15: 535-543
- Esti, M., Cinquante, L., Sinesio, F., Moneta, E., Matteo, M., 2002. Physicochemical and sensory fruit characteristic of two sweet cherry cultivars after cool storage. *Food Chem.* 76: 399-405.
- Girard, B., Kopp, T. G. 1998. Physicochemical characteristics of selected sweet cherry cultivars. *J. of Agric. and Food Chem.* 46: 471-476.
- Kappel, F., Fisher-Fleming, B., Hogue, E. 1996. Fruit characteristic and sensory attributes of an ideal Sweet Cherry. *Hort. Science.* 31,3, 443-446.
- Mozetič, B., Trebše, P., Simčič, M., Hribar, J. 2004. Changes of anthocyanins and hydroxycinnamic acids affecting the skin colour during maturation of sweet cherries (*Prunus avium* L.). *Lebensm.-Wiss. Technol.*, 37, 123–128.
- 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. *Post. Biol. and Technol.* 40: 56-63.
- Predieri, S., Dris, R., Rapparini, F. 2004. Influence of growing conditions on yield and quality of cherry: II. Fruit quality. *Food, Agric. and Environment* 2: 307-309.
- Romano, G.S., Cittadini, E.D., Pugh, B., Schouten, R. 2006. Sweet cherry quality in the horticultural production chain. *Stewart Posth. Review* 6: 2.
- Serrano, M., Díaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Castillo, S., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Valverde, J.M., Valero, D. 2009. Maturity stage at harvest determines the fruit quality and antioxidant potential after storage of sweet cherry cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 57: 3240-3246.
- Tomás-Barberán, F. A., Espín, J. C. 2001. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *J. Sci. Food Agric.*, 81, 853–876.
- Usenik, V., Kastelec, D., Štampar, F. 2005. Physicochemical changes of sweet cherry fruits related to application of gibberellic acid. *Food Chem.*, 90: 663-671.

Madrid 2012

CARACTERIZACIÓN DE 5 VARIEDADES DE CIRUELA CULTIVADAS EN LA REGIÓN DE MURCIA.

Melgarejo, P¹.; Martínez, J.J¹.; Martínez, R¹.; Legua, P¹.; Carbonell-Barrachina, A.A².; Calin, A².; Melgarejo-Sánchez, P.; Hernández F^{cal*}.

¹Universidad Miguel Hernández, Departamento de Producción Vegetal y Microbiología. Grupo de Fruticultura y Técnicas de Producción. Carretera de Beniel, km 3,2. 03312-Orihuela, Alicante (Spain).

² Universidad Miguel Hernández. Departamento de Tecnología Agroalimentaria. Grupo Calidad y Seguridad Alimentaria. Carretera de Beniel, km 3,2. 03312-Orihuela, Alicante (Spain). e-mail: francisca.hernandez@umh.es Tel: +34966749702; Fax: +34966749693.

Resumen

Cinco variedades de ciruelo: tres variedades de ciruela de epidermis roja (“Black Diamond”, “Qwent” y “606”) y dos variedades de epidermis negra (“Black Splendor” y “Fortune”) todas ellas injertadas sobre el patrón GF-677, han sido caracterizadas, en condiciones homogéneas de cultivo, en la zona de Ojós (Murcia), con el objetivo de estudiar cuál de ellas se adapta mejor a las condiciones edafoclimáticas de la zona, que es una zona privilegiada para el cultivo de frutales, en la que las variedades tempranas pueden incrementar su precocidad y todas ellas alcanzan gran calidad y productividad.

Las cinco variedades ensayadas se adaptan bien a la zona de cultivo de Ojós (Murcia); sin embargo, la variedad más precoz y con la que se obtuvo mejor resultado económico fue la “606”; el resto de variedades ensayadas, aunque de muy buena productividad no resultan tan interesantes por ser más tardías y obtener menor precio y rentabilidad.

INTRODUCCIÓN

El ciruelo (*Prunus salicina* Lindl.) es un grupo importante entre los frutales de hueso cultivados en España. La mayoría de las variedades de ciruelo cultivadas en la actualidad pertenecen a dos especies: ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl.), que incluye variedades precoces adaptadas a zonas templadas, y ciruelo europeo (*Prunus domestica* L.), más extendido en zonas frías. La superficie dedicada al cultivo de ciruelo europeo y japonés en España ha alcanzado las 18.489 ha, con una producción de 232.780 toneladas en 2009 (MARM, 2011). Las principales zonas productoras de ciruelo en España son Extremadura, Andalucía y la Región de Murcia, aportando entre las tres comunidades el 82% del total nacional (MARM, 2011). La fecha de recolección de las ciruelas es un factor esencial para la aceptabilidad por parte de los consumidores (Crisosto *et al.*, 2004). Son varios los parámetros que se utilizan para establecer el momento óptimo de maduración, tales como: color de piel, sólidos solubles totales, acidez, sabor, etc. Sin embargo, se pueden encontrar grandes variaciones en estos parámetros dependiendo del cultivar, zona de producción, condiciones climáticas, etc. (Kader y Mitchell, 1989). En la actualidad hay varios programas de mejora de ciruelo japonés que se desarrollan tanto en organismo públicos como en empresas privadas en diferentes países del mundo como Australia, Brasil, España, Estados Unidos, Francia, Israel, Italia o Sudáfrica (Guerra *et al.*, 2009). Como consecuencia de ello, en los últimos años se están incorporando al mercado nuevas variedades procedentes de dichos

Madrid 2012

programas, lo que está provocando una importante renovación varietal en la especie (Okie, 2006).

El objetivo principal de este ensayo consistió en determinar qué variedad/es, de las cinco ensayadas, se adapta/n mejor a las condiciones edafoclimáticas de la zona de Ojós (Murcia) a la vez que se comparaban entre sí en dichas condiciones ecológicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

El material vegetal es el principal elemento de toda plantación frutal, ya que, de la elección de la variedad/es, va a depender el éxito de la explotación. La adaptación de las variedades de ciruelo japonés a las distintas zonas de producción está, principalmente, condicionada por factores climáticos. Actualmente existe una gran oferta varietal, por lo que es necesario realizar la caracterización del material vegetal existente y seleccionar aquellas variedades que mejor se adapten a las condiciones edafoclimáticas de cada zona.

El ensayo se realizó en una plantación comercial de ciruelos, situada en el término municipal de Ojós (Murcia) (latitud 38° 4' 52.6''N x 1° 21' 11.6''W, 120 m sobre el nivel del mar), en el Sureste de España. Se seleccionaron para el ensayo 5 variedades de ciruelo: tres de epidermis roja ("Black Diamond", "Qwent" y "606") y dos de epidermis negra ("Black Splendor" y "Fortune") todas ellas injertadas sobre el patrón GF-677. De cada variedad se seleccionaron tres árboles al azar, y se recolectaron 10 frutos de cada árbol (30 frutos/variedad), en el momento óptimo de madurez comercial, para su caracterización en el laboratorio.

Los parámetros determinados en los frutos fueron: peso de fruto (g), diámetro ecuatorial (mm), altura (mm), espesor de pulpa (mm), peso de hueso (g), firmeza (kg/cm²), color externo del fruto, y se calculó el rendimiento en pulpa y el índice de forma de los frutos. En el zumo se determinaron los siguientes parámetros: pH, sólidos solubles totales (°Brix), acidez valorable (g ác. málico/L.), color del zumo y se calculó el índice de madurez.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las cinco variedades ensayadas en la zona de Ojós (Murcia) la que presentó ciruelas de mayor peso y calibre fue la variedad "Fortune" (131,3 g/fruto), mostrando diferencias significativas con el resto de variedades (Tabla 1a); mientras que las variedades "606" y "Black Splendor" mostraron las ciruelas de menor peso y calibre. El peso medio mostrado por la variedad "Black Diamond" cultivado en Ojós (Murcia) fue inferior al que mostró dicha variedad cultivada en la zona de Villena (Alicante) (Díaz-Mula *et al.*, 2008), mientras que fue similar al peso medio mostrado por "Black Diamond" cultivada en Mut-Mersin (Turquía) (Son, 2010), ello pone de manifiesto la influencia que las condiciones edafoclimáticas, técnicas de cultivo, etc. ejercen sobre los parámetros morfométricos de los frutos (Kader y Mitchell, 1989).

Madrid 2012

Tabla 1a. Parámetros morfométricos determinados en los frutos.

Variedad	Peso fruto (g)	D _{ecuatorial} (mm)	Altura (mm)	Índice de forma
606	85,93±13,09 a	53,15±2,73 b	51,31±3,01 a	1,04±0,05 ab
Black Diamond	98,70±12,31 bc	56,12±2,61 c	50,20±2,61 a	1,12±0,05 c
Black Splendor	88,59±13,62 ab	51,38±2,64 a	51,02±3,18 a	1,01±0,05 a
Fortune	131,32±18,91 d	59,75±2,81 d	58,17±2,95 c	1,03±0,04 ab
Qwent	109,34±13,72 c	57,21±2,57 c	54,69±3,27 b	1,05±0,04 b

Media ± SD. Los valores que llevan la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

El diámetro ecuatorial y la altura del fruto presentan un comportamiento similar al de la variable peso, lo que se pone de manifiesto tanto en la Tabla 1a, como en la Tabla 2 que muestra una correlación alta significativa entre dichas variables.

En relación a la firmeza de la pulpa (Tabla 1b) “Fortune” y “Black Splendor” mostraron los valores más altos 3,9 y 3,6 kg/cm², respectivamente, presentando una buena resistencia al transporte; mientras que la variedad “606” mostró las ciruelas con menor firmeza.

Tabla 1b. Parámetros morfométricos determinados en los frutos.

Variedad	Espesor pulpa (mm)	Firmeza (kg/cm ²)	Peso hueso (g)	Rendimiento Pulpa (%)
606	17,63±2,61 a	1,28±0,51 a	1,41±0,24 a	98,36±0,31 ab
Black Diamond	18,06±2,58 ab	3,22±0,82 b	1,47±0,19 a	98,48±0,32 b
Black Splendor	17,67±1,82 ab	3,69±0,59 c	1,63±0,33 a	98,15±0,32 a
Fortune	19,90±2,84 c	3,91±0,61 c	2,11±0,23 b	98,36±0,28 ab
Qwent	18,90±2,35 bc	3,18±0,37 b	1,60±0,33 a	98,53±0,29 b

Los valores que llevan la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

La variedad “Fortune” mostró el mayor peso de hueso (2,1 g) mostrando diferencias estadísticamente significativas con el resto de variedades. No obstante, a pesar de presentar los huesos de mayor peso, su tamaño fue pequeño (datos no mostrados) lo que junto a un gran espesor de la pulpa hizo que su rendimiento en pulpa (98,36%) fuera alto, no mostrando diferencias significativas con el resto de variedades.

En la Tabla 2, se puede observar la alta correlación que existe entre las variables peso de fruto, diámetro ecuatorial y altura; no existiendo correlación entre peso de fruto y el índice de forma, pero sí existe una correlación negativa entre el índice de forma y la altura de fruto.

Madrid 2012

Tabla 2. Correlaciones de Pearson entre los diferentes parámetros morfométricos del fruto

	Peso	D1	Altura	Índice de forma
Peso	1,00	***	***	ns
D1	0,93	1,00	***	*
Altura	0,85	0,75	1	***
Índice de forma	0,02	0,25	-0,45	1

(***) $P \leq 0.001$; (**) $P \leq 0.01$; (*) $P \leq 0.05$; ns: no significativo.

Los valores obtenidos para los parámetros químicos determinados en el zumo se reflejan en la Tabla 3. El contenido en sólidos solubles totales osciló desde los 10,6 °Brix de la variedad “606” a los 17,3 °Brix de la variedad “Qwent”. Estos valores son similares a los obtenidos por Son (2010) para distintos cultivares de ciruelo cultivados en Turquía, y a los obtenidos por Mabrouk y Mejri (2011) para las variedades “Fortune” y “Black Diamond” cultivadas en Túnez. La acidez valorable varió desde los 10,4 g ác. málico/L de la variedad “Black Diamond” a los 16,10 g ác. málico/L de la variedad “Fortune”.

Tabla 3. Parámetros químicos determinados en el zumo

Variedad	pH	SST (°Brix)	Acidez total (g ác. málico /L)	IM
606	3,52±0,04 b	10,63±0,23 a	10,72±1,12 ab	9,98±0,89 a
Black Diamond	3,50±0,08 b	15,97±0,55 c	10,40±1,22 a	15,54±2,52 b
Black Splendor	3,51±0,03 b	16,73±0,65 cd	11,03±0,66 ab	15,20±1,03 b
Fortune	3,31±0,10 a	14,20±0,20 b	16,10±1,16 c	8,85±0,54 a
Qwent	3,44±0,04 b	17,33±0,50 d	12,24±0,35 b	14,17±0,43 b

Los valores que llevan la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

El mayor índice de madurez lo mostraron las variedades “Black Diamond”, “Black Splendor” y “Qwent” frente a las variedades “606” y “Fortune” que mostraron un bajo índice de madurez.

El color externo de los frutos se refleja en la Tabla 4. Como se puede observar los mayores valores de la coordenada colorimétrica a^* se obtuvieron para la variedad “Fortune”, mientras que la variedad “Black Diamond” mostró los valores más bajos, a pesar de ser de epidermis roja, ello puede deberse a la falta de homogeneidad en el color de la piel, en el momento de la recolección, así como a la relación entre las variables a^* y b^* que condicionan la apreciación visual que el observador tiene del color.

Tabla 4. Color externo del fruto

Variedad	L*	a*	b*	C*	h*
606	33,25±2,06 c	13,53±2,33 c	5,79±2,57 b	14,80±3,06 c	22,19±6,17 a
Black Diamond	31,08±1,33 a	4,80±3,23 a	1,18±1,95 a	5,08±3,55 a	93,06±46,70 b
Black Splendor	29,93±1,88 a	8,96±2,63 b	3,01±2,52 a	9,63±3,10 b	16,88±9,98 a
Fortune	33,99±2,85 b	23,48±3,60 e	8,98±3,00 c	25,22±4,17 d	20,51±4,85 a
Qwent	42,20±5,07 c	17,10±4,77 d	13,85±5,42 d	22,91±2,42 d	38,93±17,32 ab

Los valores que llevan la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas ($P<0.05$).

El zumo que presentó el color más atractivo, para el consumidor, fue el de la variedad “Black Diamond” (Tabla 5), como se pone de manifiesto en los valores que muestra tanto el croma (C*) como el matiz (h*). Aunque C* muestra diferencias significativas con alguna variedad, es h* la que de forma clara tiene diferencias significativas con todas las demás variedades.

Tabla 5. Color del zumo

Variedad	L*	a*	b*	C*	h*
606	36,24±1,29 d	5,59±0,42 a	6,64±1,78 c	8,70±1,63 c	49,24±5,47 d
Black Diamond	32,30±0,15 b	7,68±0,44 b	1,91±0,18 a	7,92±0,47 bc	13,93±0,62 a
Black Splendor	34,09±0,22 c	4,64±0,71 a	3,29±0,55 b	5,69±0,89 a	35,31±0,71 c
Fortune	32,97±0,59 b	5,29±1,09 a	2,99±0,50 ab	6,09±1,09 ab	29,73±4,52 b
Qwent	30,09±0,45 a	5,94±1,62 a	3,23±0,64 ab	6,77±1,72 abc	28,93±2,49 b

Los valores que llevan la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas ($P<0.05$).

CONCLUSIONES

Las cinco variedades ensayadas se adaptan bien a la zona de cultivo de Ojós (Murcia), sin embargo, la variedad más precoz y con la que se obtuvo mejor resultado económico fue la “606”; el resto de variedades ensayadas, aunque de muy buena productividad no resultan tan interesantes por ser más tardías y obtener menor precio y rentabilidad, aunque “Black Diamond” y “Fortune” han resultado ser excelentes polinizadoras para la variedad “606”.

Madrid 2012**BIBLIOGRAFÍA**

- Crisosto, C.H., Garner, D., Crisosto, G.M., Bowerman, E., 2004. Increasing 'Black Amber' plum (*Prunus salicina* Lindl) consumer acceptance. *Postharvest Biol. Tec.* 34, 237-244.
- Díaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Guillen, F., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Valero, D., Serrano M. 2008. Changes in physicochemical and nutritive parameters and bioactive compounds during development and on-tree ripening of eight plum cultivars. *J. Sci. Food. Agric.* 88, 2499-507.
- Guerra, M.E., López, M., Wünsch, A., Rodrigo, J. 2009. Ciruelo japonés. Descripción varietal y situación del cultivo. *Fruticultura.* 1,4-12.
- Kader, A., Mitchell, F.G., 1989. Maturity and quality. In: Larue, J.H., Johnson, R.S. (Eds.), *Peaches Plums and Nectarines: Growing and Handling for Fresh Market.* Univ. Calif. Dept. Agric. Nat. Res., pp. 191–196. Publication no, p. 331.
- Mabrouk, H., Mejri, S. 2011. Fruit quality during ripening and cold storage of two Japanese plum varieties cultivated in Tunisia. *J. Applied Hortic.* 13(2), 115-118.
- MARM, 2012. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. <http://www.marm.es>
- Son, L. 2010. Determination on quality characteristics of some important Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) cultivars grown in Mersin-Turkey. *African J. Agric. Res.* 5(10), 1144-1146.

- II. From Cultivation to Harvest: Cultural Practices, Nutrient Management, Irrigation, Flowering, Crop Protection, Physiological Disorders, Ripening and Harvest.***
- II. Del Cultivo a la Recolección: Prácticas de Cultivo, Nutrición, Riego, Floración, Protección de Cultivos, Desórdenes Fisiológicos, Maduración y Recolección.***

CARACTERIZACIÓN DEL CRECIMIENTO DEL FRUTO EN CULTIVARES DE CIRUELO JAPONÉS CON DIFERENTE LONGITUD DE CICLO

Blanco-Cipollone, F.; Moñino, M.J; Samperio, A.; Vivas, A.; Prieto, M.H.

Centro de Investigación La Orden-Valdesequera. Gobierno de Extremadura

Resumen

En este trabajo se caracterizó el patrón estacional del crecimiento del fruto en dos cultivares de ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl.), con diferencias de más de dos meses en cuanto a la duración del periodo de crecimiento del fruto, desde cuajado a maduración. Dicha caracterización se centró en la evolución estacional del diámetro, peso fresco y peso seco de los frutos, así como del diámetro del hueso y la pulpa. Los resultados muestran diferencias notables en la dinámica de desarrollo de los dos cultivares en todos los parámetros medidos, destacando que en el caso del cv. De ciclo corto (Red Beaut) la evolución es continua, mientras que en el cv. de ciclo largo (Angeleno) la evolución atraviesa por varias fases caracterizadas por diferencias en cuanto a la tasa de incremento de diámetro y peso fresco. El incremento en peso seco en Red Beaut fue curvilíneo, mientras que en Angeleno lineal y constante a lo largo de todo el periodo, aunque en ambos cultivares se produjo una estabilización del peso unos días antes del momento de recolección.

Por otra parte, se estudió la incidencia de la aplicación de estrategias de Riego Deficitario Controlado (RDC) sobre la evolución del fruto, empleando 2 estrategias de RDC diferentes adaptadas al tipo de cv.: para Red Beaut el riego deficitario se inició tras la recolección de los frutos, estableciendo un riego que cubriera el 30% de las necesidades hídricas de la plantación hasta caída de hojas; para Angeleno se impusieron 2 periodos deficitarios, uno en fase intermedia de crecimiento del fruto, donde se anuló el riego y otro tras la recolección hasta caída de hojas, donde se aplicó un 30% de las necesidades de la plantación. En cada cultivar se dispuso de un tratamiento control regado según las necesidades hídricas. Estas estrategias ya habían sido establecidas en la plantación el año anterior a la toma de datos

En Red Beaut la estrategia de riego deficitario adoptado no tuvo ninguna incidencia sobre el patrón de desarrollo del fruto, que en ninguno de los parámetros medidos se diferenció de los correspondientes al control. En Angeleno las diferencias fueron significativas en algún momento del ciclo para todos los parámetros medidos, de forma que los frutos estresados tuvieron tamaños inferiores y con menor peso fresco durante el periodo de estrés y días posteriores; sin embargo, el peso seco de los frutos estresados fue mayor a partir de la sexta semana de reducirse el riego

Palabras clave: *Prunus salicina* (Lindl.), riego deficitario controlado, diámetro, peso seco, peso fresco, endurecimiento de hueso.

INTRODUCCIÓN

En frutales de hueso se tiende a asumir un único modelo de crecimiento del fruto según una curva en doble sigmoide, con fases de mayor y menor tasa de crecimiento relacionadas con el desarrollo fisiológico del fruto (Kriedemann, 2003). La primera fase corresponde a un periodo de rápida división celular y moderada expansión celular que

Madrid 2012

comienza en floración y termina con el inicio del endurecimiento del hueso, seguida por otra fase en la que el fruto crece de forma lenta que se caracteriza por ser en la que el hueso se endurece, siendo el fin de este endurecimiento el que marca el final de la misma. Por último, una etapa de ensanchamiento celular en la que las células existentes incrementan su volumen adquiriendo el fruto su tamaño final, esta fase comienza tras el endurecimiento del hueso y finaliza en la cosecha.

A pesar de que se suele aceptar este modelo de crecimiento de fruto en frutales de hueso, en melocotonero se han establecido diferencias entre cultivares con diferente longitud de ciclo (Yamaguchi y cols., 2002). En ciruelo japonés Basile y cols. (2002) estudiando la dinámica de acumulación de materia seca en los frutos y las limitaciones en fuente y sumidero de los mismos a lo largo de las diferentes fases, demostraron que existen diferencias en el tipo de crecimiento del fruto en función de la longitud del ciclo del cultivar e incluso encontraron ciertas discrepancias con el comportamiento de cultivares de melocotonero con similares características de ciclo que afectaban al periodo previo a recolección (Pavel y DeJong, 1993).

El riego deficitario controlado es una técnica agronómica que se basa en reducir los aportes de agua en un cultivo en determinados estados fenológicos del mismo restaurando los aportes a niveles de “no estrés” en el resto. Para la aplicación exitosa de esta técnica es fundamental conocer la sensibilidad del cultivo al déficit hídrico en los diferentes estados fenológicos, dependiendo de los procesos fisiológicos que tienen lugar en cada uno de ellos y la respuesta a un déficit hídrico creciente en dicha fase sobre la producción y calidad de la misma. En este sentido disponer de información sobre la localización temporal de los distintos sucesos relacionados con el proceso reproductivo, la sensibilidad al déficit hídrico de cada uno de ellos y la coincidencia temporal, y por tanto la competencia con el crecimiento vegetativo juegan un papel primordial

En melocotonero un déficit en las primeras etapas del desarrollo del fruto puede ocasionar pérdidas en la cosecha (Chalmers y cols., 1981) mientras que en la fase II de crecimiento del fruto y post cosecha es posible aplicar déficit sin afectar a la producción final (Girona y cols., 2003), en melocotoneros y nectarinas (Moñino, 2011) de ciclo corto, todo el periodo con presencia de fruto en el árbol se considera sensible.

Así mismo, el empleo de técnicas de RDC llevadas a cabo en ciruelo japonés de longitud de ciclo medio ponen de manifiesto que reducciones del riego en el periodo de poscosecha o ligeras reducciones del aporte hídrico en etapas en las que el fruto se encuentra en el árbol no afectan al tamaño final de los frutos (Lampinen y cols. 2001), mientras que un estrés prolongado y/o severo aplicado con el fruto en árbol reduce el tamaño final de los frutos (Intrigliolo y Castel, 2005), no obstante la información en cuanto a trabajos publicados sobre la caracterización del desarrollo del fruto y la sensibilidad al déficit hídrico en las diferentes fases por las que atraviesa en el proceso de crecimiento es escasa.

Los objetivos de este trabajo son la caracterización del crecimiento del fruto de dos cultivares de ciruelo japonés, con diferencias notables en cuanto a fecha de recolección y determinar el efecto que las estrategias de riego deficitario controlado propuestas para otros frutales de hueso, tienen sobre el desarrollo estacional de los mismos de cara a proponer, si fuera necesario, mejoras para la aplicación de dicha técnica.

MATERIALES Y MÉTODOS

La toma de datos de este estudio se realizó en el año 2011 en una plantación frutal de ciruelo japonés de 2 has ubicada en la Finca la Orden, del Centro de Investigación e La Orden-Valdesequera (Gobierno de Extremadura) en la provincia de Badajoz (longitud: 6° 40'33''W, latitud: 38° 21'40''N, altitud 180 m.). En dicha plantación 1 ha corresponde al cv. Angeleno y la otra al cv. Red Beaut ambos injertados sobre un patrón Mariana 2629 con un marco de plantación de 6 x 4 m y con los polinizadores adecuados a cada cultivar. La plantación se encontraba en su séptimo verde. El sistema de riego es por goteo, con una línea de riego en cada fila de árboles y goteros autocompensantes de 4l/h a lo largo de la misma separados 1 m.

Desde el punto de vista climático el año 2011 se puede considerar como normal en la zona, con una temperatura mínima de -2.7 °C (2 de febrero) y una máxima de 40,6 °C (19 de agosto). La pluviometría fue de 379,2 mm y la evapotranspiración de cultivo de referencia (ET_o) de brotación a caída de hoja fue de 1236.92 mm (Agralia, 2011)

En cada uno de los cultivares se establecieron dos tratamientos de riego. Un control (C) regado para satisfacer las necesidades hídricas de la plantación (ET_c) calculadas según el procedimiento propuesto por FAO: $ET_c = ET_o * K_c$ y siendo K_c el coeficiente de cultivo para una plantación de ciruelo (Allen y cols, 1998); y un tratamiento deficitario (S) establecido en función de las características del cultivar: en el cv. Red Beaut se regó para satisfacer el 100% de ET_c hasta cosecha y un 30% de ET_c en poscosecha hasta final de periodo de riego; en el cv. Angeleno se establecieron dos periodos de déficit, el primero entre los días 129 y 192 donde se anuló el riego, en una fase intermedia de crecimiento del fruto y el segundo en poscosecha donde se regó un 30% de la ET_c; el resto del ciclo se regó para satisfacer las necesidades de los árboles. El diseño estadístico fue de bloques al azar con cuatro repeticiones, cada parcela estaba formada por cuatro filas de cuatro árboles cada una.

Se realizó un muestreo periódico de frutos que se inició una vez estabilizados los frutos cuajados y finalizó con la recolección, el momento de recolección se realizó siguiendo criterios comerciales.

En cada cultivar y tratamiento se tomaron 32 frutos por muestreo, en los cuatro bloques, eligiendo frutos sanos situados a la altura de los ojos del trabajador, de la parte externa del árbol. Cada ciruela se pesó y calibró de forma individual tomando como zona de medida el ecuador del fruto y colocando la sutura del fruto entre las mandíbulas del calibre, cuatro frutos por cultivar y tratamiento se cortaron a la mitad con un cuchillo afilado partiendo por la zona ecuatorial y una vez abiertos se toman las medidas del ancho del hueso y del ancho del fruto; posteriormente todos los frutos se introdujeron en una estufa de ventilación forzada a 65°C hasta peso constante para pesado posterior

Madrid 2012

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de la evolución estacional de los frutos de los cultivares Red Beaut y Angeleno.

La figura 1 muestra que la evolución del diámetro y peso fresco de los frutos de los dos cultivares fue notablemente diferente, no solo por la duración del mismo, sino también por el ritmo de crecimiento. En Red Beaut (RB) el crecimiento fue continuo, inicialmente más rápido y lineal para ralentizarse en los días previos a la recolección (Figura 1a). Este patrón de crecimiento es similar al descrito por otros autores para cvs. tempranos de melocotonero (Pavel y DeJong, 1993) y nectarina (Moñino, 2011).

Por el contrario, en la evolución del diámetro del fruto de Angeleno (A) se diferencian tres fases (Figura 1a) con cambios en las tasas de crecimiento en cada una de ellas: Fase I más intensa desde el día juliano (DJ)109 hasta el DJ 162, donde pasó de un diámetro de 8 mm hasta un valor de 44,11 mm; la Fase II de crecimiento más lento, hasta el DJ 214, a partir del cual el tamaño del fruto se mantiene prácticamente constante hasta recolección (Fase III). En la evolución del peso fresco de A (Figura 1b) se aprecia la típica curva en doble sigmoide con dos fases de crecimiento rápido con una fase intermedia de crecimiento lento entre los días 130 y 140 y una estabilización del peso el día 214, previo a la recolección.

Pese a que la duración del ciclo de A es más del doble que la de RB, las mayores tasas de crecimiento en diámetro de este último dieran lugar a que los frutos de ambos cvs. llegaran a recolección con un diámetro similar (50mm en RB y 56 mm en A). Sin embargo, el peso fresco final del fruto de A llegó a duplicar el de RB. Estas discrepancias son consecuencias de las diferencias morfológicas entre ambos frutos y ponen de manifiesto la necesidad de disponer de una caracterización correcta de las variedades para determinar las medidas más representativas de los procesos que acontecen en la fisiología del fruto. La estabilización final del tamaño de los frutos observada en los dos cvs., pero de forma más acusada en A, contrasta con los resultados obtenidos para melocotonero (Chalmers y cols. 1981, Li y cols. 1989), en el que observan un importante incremento en el tamaño del fruto hasta la recolección.

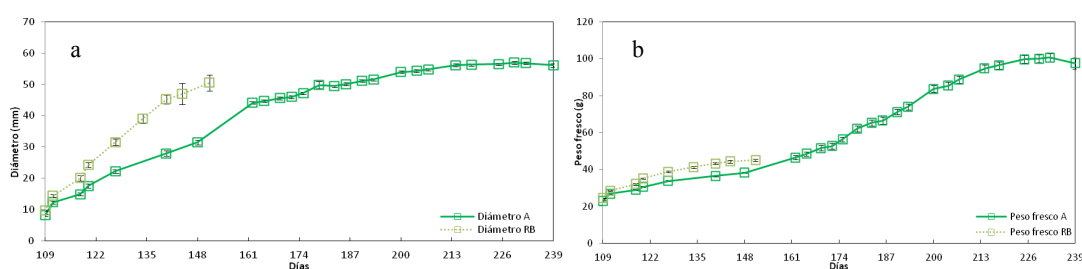


Figura 1 Evolución estacional, en días julianos del diámetro (a) y peso fresco (b) de los frutos de ciruelo japonés cv. Angeleno (—□—) y cv. Red Beaut (.....□.....). Cada punto es la media de 30 frutos. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

En la Figura 2 se observa que el tamaño del hueso de RB se incrementa de forma continua hasta recolección, mientras que en A cesa el día 162, coincidiendo con el momento en que el diámetro externo del fruto pasa a una fase de crecimiento mas lento.

Madrid 2012

En principio se podría plantear que esta parada en el crecimiento del hueso es lo que se entiende como final del endurecimiento del hueso.

El incremento en peso seco del fruto en RB (Figura 3), se produce en 2 etapas de crecimiento lento separadas por una intermedia de crecimiento más rápido llegando a un peso medio final de 5,12 g. Esta brevedad en el tiempo hace que estas etapas se sucedan en periodos muy cortos. En A el incremento en este peso seco fue lineal en el tiempo hasta el DJ 229 en que se estabiliza en torno a un peso medio por fruto de 15 g, hasta la fecha de recolección. Estos resultados coinciden con los de Basile y cols. (2002) para cultivares de ciruelo japonés de ciclo medio y tardío en los que detectaron una menor demanda de asimilados por parte del fruto en las etapas finales del ciclo productivo.

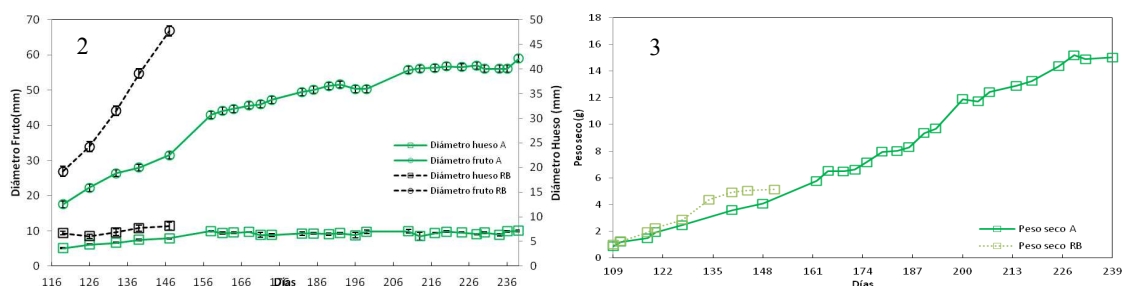


Figura 2 Evolución estacional, en días julianos del diámetro del fruto de Angeleno (—○—) y de Red Beut (—□—) y del diámetro del hueso de Angeleno (.....○.....) y Red Beut (.....□.....). Cada punto es la media de 8 frutos. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

Figura 3 Evolución estacional, en días julianos del peso seco de los frutos de ciruelo japonés cv. Angeleno (—□—) y cv. Red Beut (.....□.....). Cada punto es la media de 30 frutos. Las barras verticales representan el error estándar de la media

Influencia de los tratamientos de Riego Deficitario Controlado sobre el crecimiento de frutos de los cultivares Red Beut y Angeleno.

El tratamiento de riego aplicado en la fase de poscosecha, no afectó a la evolución estacional del fruto en RB. En la Figura 4 se aprecia que el incremento en diámetro, peso fresco y peso seco de los frutos de ambos tratamientos coincidió hasta la recolección. Las evoluciones de peso fresco y peso seco que se pueden observar en la Figura 4b, siguen un desarrollo paralelo y sin diferencias en los tratamientos de riego, el peso seco mantuvo la forma de crecimiento logarítmico y el peso fresco su crecimiento sigmoideal, sin poder llegar a diferenciar fases en el crecimiento.

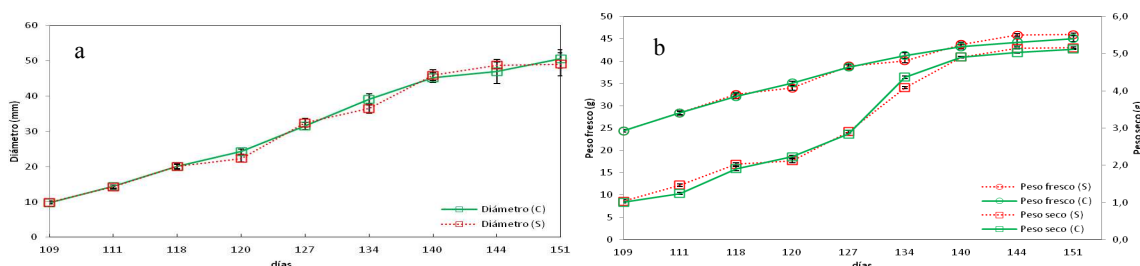


Figura 4 Evolución estacional en días julianos del diámetro (a), y peso fresco y seco (b) de los frutos de ciruelo japonés cv. Red Beut en árboles control (C) (----) y en árboles sometidos a estrés hídrico (S) (.....). Cada punto es la media de 30 frutos. Las barras verticales representan el error estándar de la media

Madrid 2012

En el cv. Angeleno, el primer periodo de riego diferencial se situó en una fase intermedia del crecimiento del fruto de 63 días, desde el DJ 129 hasta el DJ 192, con el propósito inicial de localizarlo en la fase de crecimiento más lento del fruto. En la evolución estacional del diámetro (Figura 5) se aprecia que entre los DJ 127 y 162, una vez establecido el riego diferencial, el diámetro de los frutos del tratamiento estresado se sitúa por encima de los correspondientes al control. Ambos tratamientos se igualan el día 162 y a partir del DJ 179, los frutos del tratamiento control pasan a ser significativamente más grandes que los del tratamiento estresado, manteniéndose estas diferencias incluso después de haberse restablecido el riego al 100% de la ETc en el tratamiento deficitario. Gracias a que el tratamiento deficitario mantiene el incremento de diámetro por más tiempo, los frutos de ambos tratamientos llegan a recolección con tamaños similares.

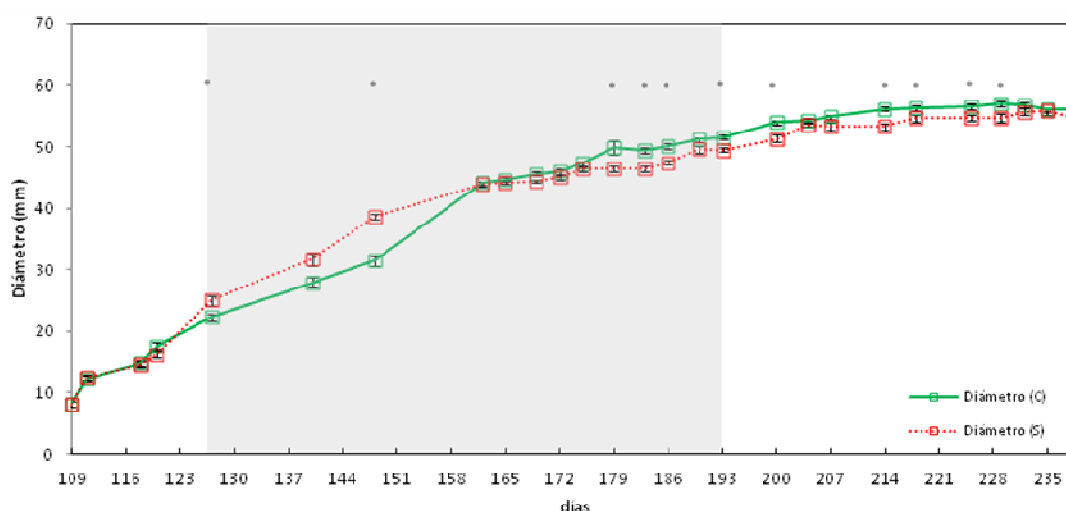


Figura 5 Evolución estacional en días julianos del diámetro de los frutos de ciruelo japonés cv. Angeleno en árboles control (C) (—□—) y en árboles sometidos a estrés hídrico (S) (- -□- -). La zona sombreada representa el periodo de estrés hídrico. Cada punto es la media de 30 frutos. Las barras verticales representan el error estándar de la media. Los asteriscos corresponden a los días en los que hay diferencias significativas entre tratamientos ($P \leq 0,05$)

Las diferencias entre tratamientos son aún más notorias al considerar la evolución del peso de los frutos (Figura 6). El peso fresco (Figura 6a) fue similar en los dos tratamientos entre los DJ 109 y 175 pero, a partir de este día los frutos del tratamiento control son significativamente más pesados que los del tratamiento estresado, con la excepción de días puntuales en que las diferencias no llegan a ser significativas en este periodo. En el caso del peso seco (Figura 6b) el déficit hídrico actúa favoreciendo la acumulación de materia seca en el fruto respecto del control bien regado, con diferencias significativas desde el DJ 168 que se mantienen hasta recolección. El peso seco medio final de los frutos estresados fue de 16,7 g frente a los 15 gramos de los del control.

Los resultados presentados ponen de manifiesto que hay periodos en los que el incremento del tamaño del fruto en diámetro y peso fresco es muy importante, pero que no coinciden necesariamente con el patrón de acumulación de materia seca. Dado el alto contenido de agua del fruto, las fases marcadas por la evolución del peso fresco indican

Madrid 2012

que hay periodos en que la disponibilidad de agua para el árbol puede ser crítica y condicionar el tamaño de los frutos, mientras que la demanda de asimilados tiene un ritmo constante y es menos sensible al déficit hídrico. Según Hsiao (1973) la expansión celular es más sensible al déficit hídrico que los procesos de traslocación y fotosíntesis, de forma que los solutos que se van acumulando en las hojas pueden ser transportados a los frutos pudiendo continuar la fotosíntesis en hoja.

Si tenemos en cuenta que el calibre es un aspecto cualitativo muy valorado en este tipo de frutos, la estrategia de riego adoptada en el caso de A supone una depreciación del valor de la producción y posible pérdida de producción. Con la información disponible, estas pérdidas parecen consecuencia de un periodo de estrés excesivamente prolongado, más allá del momento señalado como “endurecimiento de hueso”, que llegó a afectar a un periodo crítico de acumulación de agua en el fruto. Este trabajo permite una mejor definición de ese momento que “a priori” sería el adecuado para restablecer el riego en este tipo de cultivares.

Es interesante destacar el efecto positivo del déficit hídrico sobre la acumulación de materia seca en el fruto que apoya los resultados obtenidos en diversos trabajos en los que se obtienen incrementos en el contenido de sólidos solubles en frutos procedentes de árboles sometidos a riegos deficitario y que apunta a la posibilidad de conseguir mejoras en la calidad gustativa de los frutos y/o adelantos en la recolección con un adecuado diseño de la estrategias de RDC, como ocurre en melocotonero (Mitchell y Chalmers, 1982) o peral (Caspari y cols., 1994)

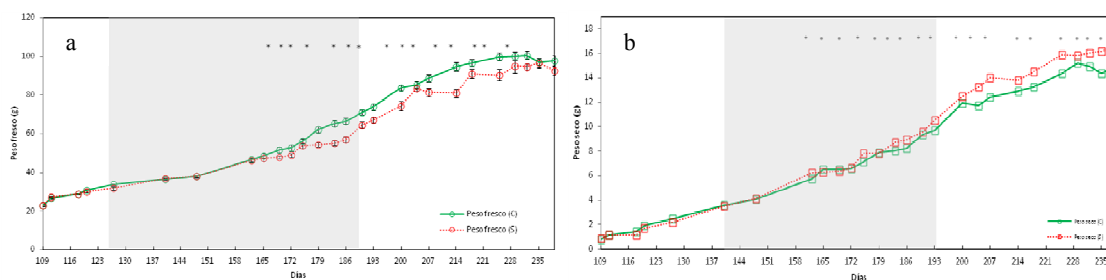


Figura 6 Evolución estacional en días julianos del peso fresco (a) y seco (b) de los frutos de ciruelo japonés cv. Angeleno en árboles control (C) (—□—) y en árboles sometidos a estrés hídrico (S) (---□---). La zona sombreada representa el periodo de estrés hídrico. Cada punto es la media de 30 frutos. Las barras verticales representan el error estándar de la media. Los asteriscos corresponden a los días en los que hay diferencias significativas entre tratamientos ($P \leq 0,05$)

CONCLUSIONES

A la vista de los resultados obtenidos se observa que existen marcadas diferencias en la dinámica de crecimiento de los frutos de ciruelo japonés de cultivares con diferente longitud de ciclo.

Los frutos de Angeleno atraviesan por diferentes fases, diferenciadas por las tasas de crecimiento de peso fresco y acumulación de materia seca en los frutos, mientras que en el caso de RB la brevedad del ciclo impide diferenciar fases en el crecimiento. A pesar de diferenciarse fases de crecimiento en el cv. A, no se corresponde con la dinámica generalizada en doble sigmoide para los frutales de hueso,

Madrid 2012

salvo en el caso del peso fresco. En ambos cultivares la dinámica de acumulación de peso fresco y seco es diferente.

La estrategia de riego deficitario controlada aplicada en el periodo poscosecha en el cv. Red Beaut no afectó a la dinámica de crecimiento de los frutos, que se mantuvo para todos los parámetros medidos como la del tratamiento control.

Sin embargo la estrategia de riego deficitario controlado aplicada al cv. Angeleno modificó significativamente a la dinámica de crecimiento del fruto, poniéndose de manifiesto la mayor sensibilidad al déficit hídrico del incremento del peso fresco que en el caso del peso seco.

AGRADECIMIENTOS

Fondo Social Europeo, I.N.I.A., Proyecto 401_RITECA_2_4_E y FEDER

BIBLIOGRAFÍA

- Agralia: red de asesoramiento al regante Extremadura (<http://aym.juntaex.es/servicios/redarex/>) (Agosto 2012)
- Allen, R.G.; Pereira, L.S.; Raes, D.; Smith, M. 1998. Crop evapotranspiration guidelines for computing crop water requirements. Irrigation Drainage Paper 56. FAO. 300p.
- Basile, B., Mariscal, M.J., Day, K.R., Johnson, R.S., DeJong, T.M. 2002. Japanese Plum (*Prunus Salicina* Lindl.) Fruit Growth: Seasonal Pattern of Source/Sink Limitations. J. Am. Promological Soc. 56:86-93.
- Caspari, H.W., Behboudian, M.H. Chalmers, D.J. 1994. Water use, growth and fruit yield of “Housi” Asian pears under deficit irrigation. J. Am. Soc. Hort. Sci. 119:383-388
- Chalmers, D.J., Mitchel, P.D., Van Heek, L. 1981. Control of peach tree growth and productivity by regulated water supply, tree density and summer pruning. J. of Am.Soc. Hort. Sci. 106:307-312.
- Girona J, Mata M, Arbones A, Alegre S, Rufat J, Marsal J. 2003. Peach tree response to single and combined regulated deficit irrigation regimes under shallow soils. J Am. Soc. Hort. Sci. 128:432–440
- Hsiao, T.C. 1973. Plant responses to water stress. Annu. Rev. Plant Physiol. 24:519-570
- Intrigolo, D.S., Castel, J. R. (2005) Effects of regulated irrigation on growth and yield of young Japanese plum trees. J. Hort. Sci. Biotechnol. 80:177-182
- Kriedemann, P.E., Goodwin, I., 2003. Regulated deficit irrigation and partial rootzone drying. Land & Water Australia. Capítulo 2: 6-26
- Lampinen, B.D., Shackel, K.A., Southwick, S.M., Olson, W.H. 2001. Deficit irrigation strategies using midday stem water potential in prune. Irrigation Sci.. 20:47-54

Madrid 2012

- Li, S.H. Huget, J.G., Schoch, P.G., Orlando, P. 1989. Response of peach tree growth and cropping to soil water deficit as various phonological stages of fruit development. *J. Hortic. Sci.* 64: 541-552
- Mitchell, P.D., Chalmers, D.J. 1982. The effects of reduced water supply on peach tree growth and yield. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 107:853-856
- Moñino, M.J. 2011. Estrategias de riego deficitario controlado en nectarina y peral: influencia sobre la productividad, el ahorro de agua y la respuesta agronómica. Universidad de Extremadura
- Pavel, E.W., DeJong, T.M. 1993. Source- and sink-limited growth periods of developing peach fruits indicated by relative growth rate analysis. *J. Amer.Soc. Ho.Sci.* 118: 820-824.
- Yamaguchi, M., Haji, T., Miyake, M., Yaegaki, H. 2002. Varietal differences in cell division and enlargement periods during peach (*Prunus persica* Batsch) fruit development. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.* 71:155–163.

Madrid 2012

EFFECTOS DEL ACOLCHADO PLÁSTICO Y DEL CULTIVO EN MESETAS SOBRE EL CRECIMIENTO DEL CIRUELO EN LA REGIÓN DE MURCIA

Sánchez, E.; Martínez, J.J.; Martínez, R.; Legua, P.; Melgarejo-Sánchez P.; Hernández Fca., Melgarejo, P*.

Universidad Miguel Hernández, Departamento de Producción Vegetal y Microbiología. Grupo de Fruticultura y Técnicas de Producción. Carretera de Beniel, km 3,2. 03312-Orihuela, Alicante (Spain). E-mail: pablo.melgarejo@umh.es Tel: +34966749649; Fax: +34966749693.

Resumen

El riego por goteo es un factor de productividad que permite al agricultor obtener producciones rentables con independencia de la pluviometría. Para optimizar el aprovechamiento del agua, se tiene la opción de utilizar cubiertas superficiales, que resultan altamente eficaces para conservar la humedad en el suelo y para prevenir el desarrollo de malezas así como para mejorar algunas propiedades físicas y químicas del suelo. Este trabajo se ha realizado en el Sureste español en unas condiciones de alta evapotranspiración potencial y baja pluviometría, por lo que el riego constituye una técnica de cultivo imprescindible. El objetivo del presente estudio es evaluar la influencia que tiene el uso del acolchado plástico y del cultivo en meseta sobre el ahorro de agua, el crecimiento y la producción del ciruelo.

Se han efectuado ocho tratamientos diferentes, incluyendo al testigo, en los cuales se han combinado 3 dosis de riego, así como el uso de acolchado plástico, mesetas de cultivo y combinaciones de ambas técnicas de cultivo entre sí. Los resultados obtenidos indican que tanto la técnica de cultivo de acolchado plástico negro, como la técnica del cultivo en meseta incrementan de forma significativa el desarrollo vegetativo de los árboles. También se aprecia que con estas técnicas de cultivo se puede alcanzar un ahorro del agua del orden del 50%.

INTRODUCCIÓN

La producción mundial de ciruela se estima en 9.3×10^6 tn (FAO, 2009) en la que se engloban tanto la ciruela europea (*Prunus domestica* L.) como la ciruela japonesa (*Prunus salicina* Lindl.). Los principales países productores por orden de importancia son: China, Rumanía, Alemania, Francia, Turquía, España, Italia, Polonia, Argentina, Hungría, Bulgaria y Reino Unido. España se sitúa en sexto lugar con una producción de 186.500 tn (FAO, 2009). En climas áridos y semidesérticos, con alta evapotranspiración potencial y baja pluviometría el riego constituye una técnica de cultivo imprescindible. Para optimizar el aprovechamiento del agua, se tiene la opción de utilizar cubiertas superficiales que pueden ser de tipo sintético (plástico), que resultan altamente eficaces para conservar la humedad en el suelo, y para prevenir el desarrollo de malezas así como para mejorar algunas propiedades físicas y químicas del suelo. La acertada estimación de las necesidades hídricas y la correcta dosificación en el tiempo, son los dos parámetros básicos más importantes en el manejo óptimo del riego. De ellos, la dosis de riego, es el parámetro que puede producir las mayores pérdidas de agua por infiltración si no se ajusta al tipo de suelo, debido a que en riego por goteo la

profundidad de raíces no supera los 40-45 cm (Alva y Prakash, 1999). El control continuado de la humedad, dentro y fuera de la zona radicular, facilita la información necesaria para ajustar periódicamente la dosis de riego, minimizando los problemas de déficit de agua en las plantas y las pérdidas por infiltración en profundidad (Fares *et al.*, 2000).

El déficit de humedad en el suelo se manifiesta en la reducción de la transpiración, fotosíntesis y, finalmente, en la producción de biomasa (Chalmers *et al.*, 1985), por lo que el rendimiento y la calidad del producto se verán afectados (Shock *et al.*, 1998). El estrés hídrico induce también cambios en el sistema radicular, que afectaran tanto al abastecimiento de nutrientes y de agua a la planta como a la tolerancia de los árboles a las bajas temperaturas. Se considera que el crecimiento y la productividad de los cultivos es proporcional al uso del agua, aunque un déficit de humedad en el suelo reduce normalmente la producción final y un estrés hídrico moderado puede llegar a mejorar la eficiencia del uso de agua y mejorar la calidad de los productos, por lo que se constituye en una herramienta útil en la fruticultura (Cohen, 1994). De ahí la importancia de analizar las relaciones hídricas de los frutales, para determinar la cantidad de agua necesaria que hay que aplicar a los mismos (Hsiao, 1985). Boller y Stephenson (1996) indican que el acolchado mejora en gran medida la estructura, materia orgánica y fertilidad del suelo. Además ayuda a conservar la humedad del suelo durante el período de sequía en el cultivo de manzano, comparado con plantaciones sin acolchado (Baumeistar, 1964; Luchkov *et al.*, 1989). Baskett (1960) expone que el acolchado con plástico negro en plantaciones jóvenes de ciruelo en Nueva Gales del Sur redujo las necesidades hídricas del cultivo en un tercio. Asimismo, Robbins y colaboradores muestran que el crecimiento de ciruelos mejoró al ser cultivados con cubiertas vegetales (a base de heno) y coberturas plásticas. El manejo del suelo tiene gran influencia en el crecimiento de los árboles frutales. El acolchado mejora considerablemente el crecimiento y vigor de las especies frutales (Haynes, 1980).

Este trabajo se ha realizado con el objetivo de evaluar la influencia que tiene el uso del acolchado plástico y del cultivo en meseta sobre el crecimiento y el ahorro de agua en ciruelo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se inició en 2002, durante tres años consecutivos (2002-2004), en una plantación comercial de ciruelo japonés (*Prunus salicina* cvr. 606 injertado sobre patrón GF 677) situada en el municipio de Ojós (Murcia), España. Los árboles se plantaron en 2002 a un marco de plantación 6 x 2 m; como polinizadores se utilizaron *Prunus salicina* cvrs. Black Diamond y Fortune, injertados sobre patrón GF 677, que se distribuyeron en líneas completas, alternando cada línea de polinizador con tres líneas de la variedad principal.

El suelo que era arcilloso y con una profundidad de suelo efectivo de 2 m, se analizó utilizando métodos estándar en dos momentos distintos del ensayo (Tabla 1).

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas del suelo

	<i>Inicial</i>	<i>Final</i>
CE (mmhos/cm)	0.64	0.78
Cl (meq)	0.68	0.99
SO ₄ (%)	0.05	0.19
Na (meq)	3.03	2.37
pH	8.15	7.9
CaCO ₃ total (%)	46.9	53.51
CaCO ₃ activa (%)	21.51	25
M.O (%)	1.07	0.67
Corg (%)	0.62	0.39
C/N	7.39	6.22
Nitrógeno orgánico+amoniacal (%)	0.88	0.06
Nitrógeno nítrico (ppm)	213.03	29.03
P (ppm)	74.4	137.31
K (meq)	0.95	0.75
Ca (meq)	12.08	7.77
Mg (meq)	5.27	7.31
Fe (ppm)	1.87	2.91
Mn (ppm)	2.61	3.18
Zn (ppm)	0.37	0.56
Cu (ppm)	1.39	2.14
B (ppm)	1.83	1.26

Para la eliminación de malas hierbas se utilizaron herbicidas, no se practicó laboreo alguno y se aplicaron los tratamientos fitosanitarios habituales en la zona para este frutal. Durante los años de ensayo la precipitación y la evapotranspiración de referencia (ET_o) medias fueron de 297,40 y 44,65 mm/año, respectivamente.

Tratamientos

El riego se aplicó mediante tuberías portagoteros de 16 mm de diámetro por cada línea de cultivo, con goteros autocompensantes y antidrenantes de 4l/h separados un metro entre ellos. Los tratamientos fueron: árboles control regados con el 100% de la evapotranspiración del cultivo (ET_c) (4 goteros), árboles regados al 50% de la ET_c (2 goteros) y árboles regados al 150% de la ET_c (6 goteros).

La nomenclatura utilizada para los tratamientos fue: T0: PN+M (2goteros /árbol); T1: T+M (2 goteros/árbol); T2: T+M (4 goteros/árbol); T3: T+M (6 goteros/árbol); T4: PN-M (2 goteros/árbol); T5: T-M (2 goteros/árbol); T6: T-M (4 goteros/árbol); T7: T-M (6 goteros/árbol).

Para el control de la humedad del suelo y programación del riego se han utilizado tensiómetros Watermark situados a una profundidad de 30 y 60 cm. Se realizaron dos tratamientos: sin acolchado (T) y con acolchado plástico (PN). El acolchado plástico se realizó con una lámina de polietileno negro de 300 galgas. Asimismo se ensayó el efecto del cultivo con mesetas (+M) o sin ellas (-M). El diseño experimental consistía en

Madrid 2012

bloques completos al azar con tres repeticiones por tratamiento. Cada bloque tenía 8 líneas con 7 árboles cada una.

Crecimiento vegetativo

Para estudiar el crecimiento del árbol se midió el diámetro de tronco a nivel del patrón (0,2 m sobre el suelo) y del injerto dos veces al año (febrero y octubre). También se evaluó la longitud de los brotes durante los tres años, iniciando las medidas en el mes de febrero, y realizándolas cada 15 días hasta la parada estival en el mes de julio.

RESULTADOS

Tabla 2. Diámetro medio del injerto, diámetro medio del patrón y longitud de brotes (mm) obtenidos en los diferentes tratamientos

TRATAMIE NTO	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Ø injerto	44.9 9±1. 5 d	42.53± 3.2 bc	49.98± 3.8 ef	50.09± 3.7 f	42.07± 1.6 c	32.29± 3.0 a	41.56± 3.3 b	47.52± 3.3 de
Ø patrón	65.3 0±2. 4 d	57.62± 4.4 c	70.50± 5.3 de	71.57± 5.7 e	54.48± 2.2 c	39.43± 3.9 a	51.85± 4.314 b	61.37± 4.2 c
L brotes	82.7 2±2. 1 d	78.71± 2.5 c	77.61± 3.3 bc	79.83± 3.0 cd	73.52± 2.0 b	52.09± 2.9 a	75.70± 3.258 bc	93.40± 3.4 e

En cada casilla se presenta el valor medio ± Error Estándar (n=40) para el D del injerto y del patrón y (n=100) para la L de brotes. Letras diferentes indican diferencias significativas al 95% de nivel de confianza.

A) Efecto del plástico.

En la Tabla 2, se observa que con T0 se obtienen resultados significativamente mayores que en T1, para los tres parámetros controlados cuando el cultivo se realiza sobre mesetas.

El tratamiento T4 produce resultados significativamente mayores que el T5, para los tres parámetros estudiados, lo que demuestra el efecto positivo de la cobertura plástica cuando el cultivo se realiza en meseta.

El tratamiento T4 produce resultados significativamente mayores que T6 para los parámetros diámetro del injerto y diámetro del patrón, siendo el efecto de ambos tratamientos igual para el crecimiento de los ramos. Destaca el hecho de que en T6 se duplica la dosis de agua aplicada respecto a T4, lo que también evidencia el efecto positivo de la cubierta plástica.

El tratamiento T4 origina menor crecimiento del injerto y de los brotes que T7, siendo ambos tratamientos iguales para el diámetro del patrón. Por tanto el cultivo sin

Madrid 2012

mesetas y sin plástico sólo supera al cultivo sin mesetas y con cobertura plástica cuando en el primero (T7) se triplica la dosis de riego respecto al segundo (T4).

El tratamiento T0 origina mayor crecimiento de brotes que T2, siendo ambos iguales para el crecimiento del diámetro del patrón; siendo además $T0 < T2$ para el diámetro del injerto, lo que indica que la cobertura plástica del suelo provoca un ahorro de agua próximo al 50% frente al cultivo sin ella.

B) Efecto de la meseta de cultivo.

El tratamiento T0 origina crecimientos del patrón, del injerto y de los brotes significativamente superiores al tratamiento T4, lo que demuestra la influencia positiva del cultivo en mesetas.

El tratamiento T0 origina una longitud de brotes estadísticamente mayores que los tratamientos T1, T2, T4, T5 y T6, siendo ésta igualada por los tratamientos T3 (en el que se duplica la dosis de agua respecto a T0) y superada por T7 (en el que se triplica la dosis de agua respecto a T0).

C) Efecto combinado de meseta y cobertura de plástico.

Si comparamos el tratamiento con meseta y cobertura de plástico (T0) con el tratamiento sin meseta y sin cobertura de plástico (T5) se aprecia, que tanto para el diámetro del injerto, como para el diámetro del patrón y para la longitud de brotes se observan diferencias estadísticamente significativas. Por lo que la combinación de meseta con cobertura plástica supone una importante ventaja para el desarrollo vegetativo de los árboles.

DISCUSIÓN

Al principio de los ensayos no se conocían estudios que combinaran el uso de cobertura plástica con el uso de mesetas en frutales, por lo que la discusión la realizaremos basándonos en los escasos trabajos publicados. El uso de las mesetas de cultivo sólo aparece referenciado para el cultivo de los cítricos. De nuestros resultados se deduce que el uso combinado de acolchado plástico y meseta incrementa de forma significativa el diámetro del injerto y el diámetro del patrón, así como la longitud de brotes, resultados similares son obtenidos por Ferrer *et al.* (2004) en mandarino Oronules injertado sobre patrón Citrange Carrizo, cultivado sobre meseta y con acolchado de plástico negro. Por lo tanto, de estos resultados se deduce que la técnica de cultivo de acolchado plástico incrementa de forma significativa el desarrollo vegetativo de los árboles.

El conocimiento de la respuesta de los cultivos a distintas dosis de riego es fundamental para la planificación y gestión de los recursos, máxime en áreas con recursos hídricos limitados (Domingo *et al.*, 2001); así, otro aspecto de gran relevancia, que se deduce de los resultados obtenidos, es que con estas técnicas el ahorro de agua de riego puede resultar muy significativo, del orden del 50%, sin que la planta sufra déficit que conlleve una disminución de la producción, como ha sido descrito por autores como

Jankovic *et al.* (1972) en manzano, Torrecillas, *et al.*, (2000) en albaricoquero, Naor *et al.* (2001) en melocotonero y Naor *et al.* (2004) en ciruelo japonés. En general la producción ha resultado significativamente mayor en todos los tratamientos con meseta frente a los sin meseta (resultados no expuestos en este trabajo), como también obtiene Ferrer *et al.*, (2004) en un trabajo sobre efectos en el cultivo de los cítricos del acolchado del suelo con plástico negro.

CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos se concluye que:

- 1.- La técnica de cultivo con acolchado plástico negro incrementa de forma significativa el desarrollo vegetativo de los árboles.
- 2.- El uso de la técnica del cultivo en meseta aumenta el crecimiento tanto del diámetro de injerto como del diámetro del patrón.
- 3.- Con estas técnicas de cultivo se puede alcanzar un ahorro del agua del orden del 50%.

BIBLIOGRAFÍA

- Alva, A.K., Prakash, A., Hornsby, A., y Fares, A. 1999. Distribucion of rainfall and soil moisture content of soil profil under citrus tree canopy and at drip line. *Irrig. Sci.* 18, 109-15.
- Baskett, W.J 1960. Polythene plastic sheeting for mulching fruti trees and vegetables. *Australian J. Agric.l Research.* 64, 149.
- Baumeistar, J. 1964. The water supply in the soil of grass mulched orchrds. *Erw. Absth.* 6, 73-76.
- Boller, C.A. and R.E. Stephenson 1996. Some effects of mulches on soil properties. *Proceedings Am. Soc. Hortic. Sci.* 48, 37-39.
- Chalmers, D.J., P.D. Michel y P.H. Jerie. 1985. The relation between irrigation. Growth and productivity of peach. *Acta Horticulturae* 173: 283-288.
- Cohen, M. 1994. Cálculo y control del riego en cultivos arbóreos. pp.1-35. *In:* Producción y economía de frutos secos. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentáries (IRTA). Barcelona, España.
- Domingo, R., M.C., Nortes, P. A., Torrecillas, A. y Perez, A. 2001. Respuesta productiva de albaricoqueros búlida al riego deficitario. *ITEA volumen extra.*
- F.A.O. 2009. Food and Agriculture Organization. Anuario de producción.
- Fares, A., y Alva, K.A. 2000. Evaluación of capacitance probes for optimal irrigation of citrus through soil moisture monitoring in a entisol profile.
- Ferrer Talón, P. J., Villalba Buendía, D., García Tarín, A. 2004. Efectos en el cultivo de los cítricos del acolchado del suelo con plástico negro. *Fruticultura profesional* Enero/Febrero 2004.

Madrid 2012

- Hayness, R.J. (1980) Influence of soil management practice on the orchard agro-ecosystem. *Agro Ecosystems* 6, 3-32.
- Hsiao, T.C. 1985. Physiological aspects of water use by trees. pp. 68-71. In: D. Ramos (ed.). Walnut orchard management. Cooperative Extension Service. University of California. Davis, CA.
- Jankovic, R., Tesic, M. and Bojic, M. 1972. Uticaj nacina odrzavanja zemljista na njegove osobine, pocetnu rodnost I krupnocu plodova jabuke. *Jugoslovensko vocarstvo*, 19-20:647-658.
- Luchkov, P.G., Ponomarenko G.A. and R. Kh. Kudaev (1989) Mulching the soil in young orchards in slopes. *Sadovostvo I vinogradarstvo*. 4, 11-12.
- Shock, C.C., E.B.G. Feibert y L.D. Saunders. 1998. Onion yield and quality affected by soil water potencial as irrigation threshold. *HortScience* 33: 1188-1191.
- Torrecillas, A., Domingo, R., Galego, R. and Ruiz- Sanchez, M. C. (2000). Apricot tree response to withholding irrigation at different phenological periods. *Scientia Horticulturae*, 85, 201-15.

Madrid 201

EFFECTO DEL ANÁLOGO DE BRASINOSTEROIDE DI-31, FORMULADO COMO W. UNIFORMITY SUPERPLUS, SOBRE LA PRODUCCIÓN DE DIVERSAS VARIEDADES DE CEREZO (*Prunus avium* L.) EN LA PROVINCIA DE MURCIA

Serna, V.¹, Serna, M.¹, Amorós, A.²

¹Empresa Agroserna, S.L. Polígono Ind. Mos del Bou, P-14, nº 58. Albaterra-Alicante-España. ²Universidad Miguel Hernández de Elche. Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Departamento de Biología Aplicada.

Resumen

En este trabajo se ha realizado un estudio de la aplicación del formulado **W. Uniformity Superplus** que contiene el brasinosteroide de síntesis DI-31 sobre la producción y parámetros físico-químicos de 4 variedades de cereza en campo: Sweet Heart, Sweet Late, Primet Giant y Brooks. Los resultados han demostrado que este compuesto aplicado dos veces en pulverización foliar, una vez en yema y otra vez en flor en el estado C de botón rosa, ha producido unos incrementos de la producción de cerezas, con respecto a los testigos, del 29,00%, 17,27%, 31,50% y 28,04% en las variedades Sweet Heart, Sweet Late, Primet Giant y Brooks respectivamente. Este aumento en la producción ha sido debido tanto al incremento del número de frutos por planta, como del peso y tamaño de las cerezas en todas las variedades estudiadas excepto en Sweet Late en la que ha incrementado el número de frutos por planta, pero no ha incrementado significativamente ni el peso ni el tamaño de las cerezas. Los tratamientos con este formulado también han incrementado significativamente los sólidos solubles de las cerezas en las variedades Sweet Heart y Brooks, mientras que las ha mantenido en las otras dos variedades estudiadas.

Palabras clave: Brasinosteroide, *Prunus avium*, producción

INTRODUCCIÓN

La región del sureste español se caracteriza por su gran tradición en la agricultura profesional e intensiva, donde se dan cultivos como frutales de hueso, uva de mesa, cítricos, hortalizas, ornamentales, además de numerosos cultivos a campo abierto. En esta misma región se encuentra situada la empresa AGROSERNA SL, que se dedica además de la síntesis del ingrediente activo del formulado **W. Uniformity Superplus**, a la dirección técnico-agronómica de empresas de cultivos, asesoramiento, además de la producción y comercialización de cítricos. La necesidad de usar las aguas para riego procedentes del subsuelo y con muy altas concentraciones de sales, requiere que las empresas del sector se dediquen a desarrollar soluciones nutritivas específicas para paliar y mejorar los rendimientos que año tras año están bajando.

Los brasinosteroides (BRs) son una familia de compuestos que se han encontrado en todo el reino vegetal y ha sido demostrada su existencia en casi todas las partes de las plantas, tales como polen, yemas florales, frutos, semillas, hojas, tallos y raíces. Hasta el momento han sido aislados cerca de 70 brasinosteroides en plantas (Bajguz y Tretyn, 2003). Se ha demostrado que juegan un papel crítico en un amplio rango de procesos del

Madrid 201

desarrollo, tales como el crecimiento de tallos, raíces, iniciación floral y el desarrollo de flores y frutos (Swamy y Rao, 2008). Los brasinosteroides también han sido implicados en respuestas de las plantas a diferentes tipos de estrés tanto bióticos como abióticos (Bajguz y Hayat, 2009). Por esta razón ha sido demostrado que se pueden utilizar BRs como reguladores del crecimiento en agricultura para incrementar las cosechas (Zullo y col., 2003), lo que se puede realizar debido a que los BRs son un tipo de hormonas no tóxicas (Esposito y col., 2011) y no contaminantes ambientalmente (Kang y Guo, 2011). Como el aislamiento e identificación de los BRs naturales es un proceso costoso, han proliferado los procesos de síntesis y evaluación de BRs sintéticos o semisintéticos, entre ellos los análogos de BR espirostánicos (Zullo y Adam, 2002), entre los que se encuentran el biobrás 6 y el MH5 (Mazorra y col., 2004) y el biobrás 16 ó DI-31 (Serna y col., 2012a y b).

El objetivo de este estudio ha sido evaluar los efectos de la aplicación del formulado W. UNIFORMITY SUPERPLUS, sobre parámetros físicos (producción, peso, diámetro y nº de frutos/rama) y parámetros químicos (°Brix) en diferentes variedades de cerezo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se llevaron a cabo en diferentes parcelas de Jumilla en la región de Murcia (España), durante los años 2008, 2009, 2010 y 2011.

El material vegetal utilizado ha sido diferentes variedades de árboles adultos de cereza (*Prunus avium* L.). Las variedades son: Sweet Heart, Sweet Late, Primet Giant y Brooks. Las plantaciones de cereza tenían una densidad de 780 árboles/ha y un marco de plantación de 3,2 x 4, para la variedad Sweet Heart, una densidad de 666 árboles/ha y marco de plantación de 3x5 para la variedad Sweet Late, densidad de 700 árboles/ha y marco de plantación de 3,5 x 4,2 para la variedad Primet Giant y, densidad de 720 árboles/ha y marco de plantación de 3,5 x 4, para la variedad Brooks. Se ha realizado un diseño de bloques al azar con 4 repeticiones por tratamiento. Los ensayos constaron de 100 árboles (25 árboles/repeticion).

El análogo de BR utilizado en el presente trabajo es el DI-31, que se encuentra formulado en el producto W.Uniformity Superplus desarrollado por AGROSERNA SL. Debido a que el BR produce un incremento del crecimiento, las plantas necesitan más **fertilización** que las plantas no tratadas, por lo que este formulado tiene incorporado una mezcla de compuestos minerales de N, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn y Zn, ya que estudios realizados sobre la aplicación de BRs combinados con fertilizantes minerales ponen de manifiesto que incrementan la producción y aumentan la calidad de las cosechas (Pirogovskaya y col., 1996; Serna y col., 2012 a y b). Este formulado potencia y mejora los procesos vegetativos y reproductivos sin producir daños fitotóxicos ni: al aplicador ni a las diferentes especies vegetales aplicadas, ni a los cultivos colindantes.

En cada ensayo se realizaron dos tratamientos: a) Tratamiento testigo que no lleva ninguna aplicación con este formulado y b) Tratamiento con W. Uniformity Superplus, realizándose dos aplicaciones con este formulado, cuyos momentos de aplicación son los siguientes:

Madrid 201

1º) Aplicación para Inducción Floral, entre los 30 y 45 días después de la recolección, según variedades, con el objetivo de incrementar los procesos de **inducción-diferenciación floral y brotación de yemas**, además de ayudar a una reestructuración del equilibrio hormonal.

2º) Aplicación entre el 10% y el 20% de Botón Rosa (Estado C), con el objetivo de favorecer un mejor cuajado.

Dosis de aplicación:

a) Para la 1ª aplicación 10 L/ha en todas las variedades.

b) Para la 2ª aplicación, 40 L/ha en todas las variedades.

En total se aplicaron 50 L/ha.

Antes del inicio de recolección se realizó una determinación del % cuajado (nº frutos/rama) y en recolección se cogieron muestras de frutos para evaluar el diámetro final del fruto, peso unitario y °Brix. Para determinar el % de cuajado se realizó un conteo de número de frutos en un total de 20 árboles por tratamiento y 4 ramas por árbol, en la orientación de los cuatro puntos cardinales. También se llevó a cabo la recolección de 100 árboles por tratamiento para determinar la producción (kg/ha).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la aplicación del análogo de brasinosteroide DI-31 (formulado como W. Uniformity Superplus) sobre el cultivo de cereza variedad Sweet Heart se encuentran en la Tabla 1. El tratamiento ha incrementado significativamente todos los parámetros estudiados, tanto producción, peso unitario, diámetro y % de cuajado, de manera que se ha obtenido un incremento de producción del 29,00% como consecuencia de un incremento tanto del % de cuajado (nº frutos/rama) en un 19,67%, como del peso (incremento del 17,79%) y diámetro (en un 8,07%) de las cerezas Sweet Heart. Además también se ha producido un incremento de los °Brix de los frutos tratados con el formulado con respecto al testigo en un 14,79%.

Tabla 1. Efecto del W. Uniformity Superplus sobre parámetros físicos y químicos en cerezo, variedad Sweet Heart.

TRATAMIENTOS	PRODUCCIÓN	PESO UNITARIO (g/fruto)	DIÁMETRO (mm)	Nº frutos/rama	°brix
W. UNIFORMITY SUPERPLUS	41700 b	9,40 b	26,63 b	117,7 b	17,15 b
TESTIGO	32318 a	7,98 a	24,64 a	53,58 a	14,94 a

Cada dato es la media de muestras procedentes de 100 árboles por tratamientos. Cada letra distinta pertenece a tratamientos con diferencias al 95% de significación.

Para la variedad Sweet Late, los resultados son ligeramente diferentes a la anterior variedad ya que la aplicación del análogo de brasinosteroide DI-31 también fue determinante para obtener incrementos significativos en los parámetros de producción con un incremento del 17,27%, pero en esta variedad este aumento de producción se ha debido sólo a un incremento del % de cuajado, expresado como nº de frutos/rama, del 41,09% pero no hubo incremento significativo ni para el peso unitario ni del diámetro de fruto. El dulzor

Madrid 201

de las cerezas también ha incrementado ya que ha habido un aumento significativo de los sólidos solubles totales en un 8,79% (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto del W. Uniformity Superplus sobre parámetros físicos y químicos en cerezo, variedad Sweet Late.

TRATAMIENTOS	PRODUCCIÓN	PESO UNITARIO (g/fruto)	DIÁMETRO (mm)	Nº frutos/rama	°brix
W. UNIFORMITY SUPERPLUS	37855 b	8,95 a	25,78 a	115,6 b	18,43 b
TESTIGO	32280 a	8,50 a	25,32 a	81,93 a	16,94 a

Cada dato es la media de muestras procedentes de 100 árboles por tratamientos. Cada letra distinta pertenece a tratamientos con diferencias al 95% de significación.

El análisis estadístico determina que la aplicación del análogo de brasinosteroide DI-31 (formulado como W. Uniformity Superplus) sobre el cultivo de cereza variedad Primet Giant ha influido sobre todos los parámetros estudiados produciendo un incremento significativo en todos ellos, que ha sido del 31,50% de la producción, como consecuencia de un incremento tanto del % de cuajado (nº frutos/ rama) en un 40,44% y del peso unitario en un 14,60% y diámetro de las cerezas en un 6,39%. Sin embargo, no hay diferencias significativas para los °Brix de los frutos tratados con el formulado con respecto al testigo en esta variedad (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto del W. UNIFORMITY SUPERPLUS sobre parámetros físicos y químicos en cerezo, variedad PRIMET GIANT.

TRATAMIENTOS	PRODUCCIÓN	PESO UNITARIO (g/fruto)	DIÁMETRO (mm)	Nº frutos/rama	°brix
W. UNIFORMITY SUPERPLUS	25400 b	9,34 b	26,14 b	57,3 b	17,20 a
TESTIGO	19315 a	8,15 a	24,57 a	40,8 a	16,12 a

Cada dato es la media de muestras procedentes de 100 árboles por tratamientos. Cada letra distinta pertenece a tratamientos con diferencias al 95% de significación.

La aplicación del análogo de brasinosteroide DI-31 (formulado como W. Uniformity Superplus) sobre el cultivo de cereza variedad Brooks ha influido significativamente en todos los parámetros estudiados con un aumento de producción del 28,04% como consecuencia de un incremento del 51,59% del % de cuajado (nº frutos/ rama) y del 17,39% y 5,69% del peso y diámetro unitario de las cerezas. Además también se produce un incremento de los sólidos solubles totales de las cerezas tratadas con el formulado con respecto al testigo del 9,26% (Tabla 4).

Tabla 4. Efecto del W. Uniformity Superplus sobre parámetros físicos y químicos en cerezo, variedad Brooks.

TRATAMIENTOS	PRODUCCIÓN	PESO UNITARIO (g/fruto)	DIÁMETRO (mm)	Nº frutos/rama	°brix
W. UNIFORMITY SUPERPLUS	31563 b	9,65 b	26,54 b	86,50 b	17,45 b
TESTIGO	24650 a	8,22 a	25,11 a	57,06 a	15,97 a

Cada dato es la media de muestras procedentes de 100 árboles por tratamientos. Cada letra distinta pertenece a tratamientos con diferencias al 95% de significación.

En este trabajo se pone de manifiesto que la aplicación del análogo de BR DI-31 en forma del formulado W. Uniformity Superplus ha producido un aumento de la producción de cerezas en todas las variedades estudiadas, debido sobre todo a un aumento del número

Madrid 201

de frutos como consecuencia de un mayor cuajado. Este mayor cuajado se ha producido tanto por un incremento del número de flores (datos no mostrados) como por un incremento del cuajado de las flores. Se ha comprobado que la señal de los BRs establece una ruta genética de regulación de la red que regula la floración disminuyendo el tiempo de inicio de la floración y por tanto incrementando la inducción floral (Domagalska y col., 2007; Li y col., 2010). Específicamente, la señal de los BRs actúa reprimiendo la expresión de *FLC* (locus represor de la floración), por lo que los mutantes *br11*, insensibles a BRs, muestran retrasos del periodo de floración (Domagalska y col., 2007). Por tanto, los tratamientos con el formulado W. Uniformity Superplus han podido incrementar la inducción floral al estar constituidos por el análogo de BR DI-31. Además, los BRs han sido directamente relacionados tanto con el desarrollo de flores como con el desarrollo y maduración de frutos (Montoya y col., 2005; Symons y col., 2006). Un incremento productivo con tratamientos de BRs eran observados en otras especies como en tomates (Nuñez y col., 1995), en maracuyá (Gomes y col., 2006), en chumbera (Cortés y col., 2003), en garbanzos (Ali y col., 2007), en lentejas (Hayat y Ahmad, 2003) y en pimientos (Serna y col., 2012 b), entre otras especies. Este incremento de la producción era debida sobre todo a un incremento en el número de frutos por planta tal como también han encontrado Serna y col. (2012 b) en pimientos. En este estudio se ha conseguido un incremento en el peso de las cerezas después del tratamiento con el análogo de BR, tal como Gomes y col. (2006) han conseguido en maracuyá, Nuñez y col., (1995) en tomates, Peng y col., (2004) en lichis, Ali y col., (2007) en garbanzos y Serna y col., (2012 b) en pimientos. Por otro lado, el tratamiento con BR también ha producido un incremento de los °Brix tal como también han encontrado Vardhini y Rao (2002) en tomate, Vardhini y Rao (1998) en cacahuete y Yu y col., (2004) en pepino.

Por tanto, este formulado ha conseguido un óptimo equilibrio nutricional en las plantas, ya que ha incrementado la producción de las cosechas. Las características de este formulado influyen directamente sobre los procesos fisiológicos de inducción y diferenciación floral, por lo que su aplicación influye de manera significativa sobre el número de yemas de flor que a su vez incide en el número de frutos de la campaña siguiente. El conocimiento de dichos procesos (inducción y diferenciación floral), especialmente en lo referente al momento y condiciones en las cuales tienen lugar en las diferentes especies de frutales, es básico para tratar de influir la producción de la campaña siguiente.

CONCLUSIONES

1ª) La aplicación del formulado: W. UNIFORMITY SUPERPLUS (**que contiene el análogo de brasinosteroide DI-31**) a las dosis recomendadas y en los momentos establecidos ha influido de manera muy positiva sobre las cuatro variedades de cereza, produciendo:

- a) Incrementos de producción.
- b) Incremento del peso de los frutos.
- c) Incremento del diámetro de los frutos.
- d) Incremento en el % de cuajado (nº frutos/rama).

Madrid 201

e) Incremento en los °Brix.

2ª) Estos resultados han sido evaluados durante 4 campañas consecutivas (2008-2011), **por lo que su aplicación en esta especie y, en particular en estas variedades, es idónea para obtener los resultados esperados sobre estos parámetros evaluados.**

3ª) También se puede concluir que es prioritario y fundamental para unos resultados satisfactorios aplicar el formulado en las dosis indicadas y los momentos establecidos.

REFERENCIAS

- Ali, B., Hayat, S., Ahmad, A. 2007. 28-homobrassinolide ameliorates the saline stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Environ. Exp. Bot. 59, 217-223.
- Bajguz, A., Hayat, S. 2009. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. Plant Physiol and Biochem. 47, 1-8.
- Bajguz, A., Tretyn, A. 2003. The chemicals characteristic and distribution of brassinosteroids in plants. Phytochemistry, 62, 1027-1046.
- Cortés, P.A., Terrazas, T., León T., Larqué-Saavedra, A. 2003. Brassinosteroid effects on the precocity and yield of cladodes of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* (L) Mill.). Scientia Horticulturae. 97, 65-73.
- Domagalska, M.A., Schomburg, F.M., Amasino, R.M., Vierstra, R.D., Nagy, F., Davis, S.J. 2007. Attenuation of brassinosteroid signaling enhances *FLC* expression and delays flowering. Development. 134, 2841-2850.
- Esposito, D., Komarnytsky, S., Shapses, S., Raskin, I. 2011. Anabolic effect of plant brassinosteroid. FASEB J. 25, 3708-3719.
- Gomes, A. M. M., Compostrini, E., Rocha, N., Pio. A., Massi, T., Siqueira, L., Carriello, R.C., Torres, A., Nuñez, M., Zullo, M.A. 2006. Brassinosteroid analogue effects on the yield of yellow passion fruit plants (*Passiflora edulis* f. flavicarpa). Scientia Horticulturae. 110, 235-240.
- Hayat, S., Ahmad, A. 2003. Brassinosteroids: Bioactivity and Crop Productivity, Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.
- Kang, Y.Y., Guo, S.R. 2011. Role of brassinosteroids on horticultural crops. In: Brassinosteroids, a class of plant hormone. Eds. Hayat, S., Ahmad, A. Springer, Berlin.
- Li, J., Li, Y., Chen, S., An, L. 2010. Involvement of brassinosteroid signals in the floral-induction network of *Arabidopsis*. J. Exp. Bot. 61, 4221-4230.
- Mazorra, L.M., Núñez, M., Nápoles, M.C., Yoshida, S., Robaina, C., Coll, F., Asami, T., 2004. Effects of structural analogs of brassinosteroids on the recovery of growth inhibition by a specific brassinosteroid biosynthesis inhibitor. Plant Growth Regul. 44, 183-185.

Madrid 201

- Montoya, T., Nomura, T., Yokota, T. y col., 2005. Patterns of dwarf expression and brassinosteroid accumulation in tomato reveal the importance of brassinosteroid synthesis during fruit development. *Plant J.* 42, 262-269.
- Núñez, M. y col. 1995. Influencia del análogo de brasinoesteroide Biobras-6 en el rendimiento de plantas de tomate cultivar INCA-17. *Cultivos Tropicales.* 16, 49-52.
- Peng, J.; Tang, X., Feng, H. 2004. Effects of brassinolide on the physiological properties of litchi pericarp (*Litchi chinensis* cv. Nuomoci). *Scientia Horticulturae.* 101, 407-416.
- Pirogovskaya, G.V., Bogdevitch, I.M., Naumova, G.V., Kripach, V.A., Azizbekyan, S.G., Krul, L.P. 1996. New forms of minerals fertilizers with additives of plant growth regulators. *Proceeding of the Plant Growth Regul. Soc. Am.* 23: 146-151.
- Serna, M., Hernández, F., Coll, F., Amorós, A. 2012 a. Brassinosteroid analogues effects on the yield and quality parameters of field-grown lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Scientia Horticulturae.* 143, 29-37.
- Serna, M., Hernández, F., Coll, F., Coll, Y., Amorós, A. 2012 b. Brassinosteroid analogues effects on the yield and quality parameters of greenhouse-grown pepper (*Capsicum annuum* L.) *Plant Growth Regul.* On line DOI: 10.1007/s10725-012-9718-y.
- Swamy, K.N., Rao, S.S.R., 2008. Influence of 28-homobrassinolide on growth, photosynthesis metabolite and essential oil content of geranium [*Pelargonium graveolens* (L.) Herit]. *Am. J. Plant Physiol.* 3, 173-174.
- Symons, G.M., Davies, C., Shavrukov, Y., Dry, I.B., Reid, J.B., Thomas, M.R. 2006. Grapes on steroids. Brassinosteroids are involved in grape berry ripening. *Plant Physiol.* 140, 150-158.
- Vardhini, B.V., Rao, S.S.R. 1998. Effect of brassinosteroids on growth, metabolite content and yield of *Arachis hypogaea*. *Phytochem.* 48, 927-930.
- Vardhini, B.V., Rao, S.S.R. 2002. Acceleration of ripening of tomato pericarp discs by brassinosteroids. *Phytochem.* 61, 843-847.
- Yu, K.Q., Huang, L.F., Hy, W.H., Zhou, Y.H., Mao, W.H., Ye, S.F., Nogues, S. 2004. A role for brassinosteroids in the regulation of photosynthesis in *Cucumis sativus*. *J. Exp. Bot.* 55, 1135-1143.
- Zullo, M.A.T., Adam, G. 2002. Brassinosteroid phytohormones-structure, bioactivity and applications. *Braz. J. Plant Physiol.* 14, 143-181.
- Zullo, M.A.T., Kohout, L., De Azevedo, M.B.M. 2003. Some notes on the terminology of brassinosteroids. *Plant Growth Regul.* 39, 1-11.

Madrid 2012

COMPARISON OF STANDARD FRUIT QUALITY PARAMETERS OF SEVERAL JAPANESE PLUM CULTIVARS ORGANIC AND CONVENTIONALLY MANAGED

Pérez-Romero L. F.; Camacho M.; Arroyo F. T.; Santamaría C. and Daza A.

IFAPA, Centro “Las Torres-Tomejil”, Aptdo. Oficial, 41200-Alcalá del Río (Seville), Spain. e-mail: antonio.daza@juntadeandalucia.es

Abstract

Organic farming is a certified system that focuses on quality and safety of food and the conservation of the natural environment. Organic fruit production is still very low, perhaps because of the difficulty of an adequate control of pests and diseases. In a recent manuscript (Int. J. Food Sci. and Technol. 2012, 47, 341-349) the standard fruit quality parameters of fourteen Japanese plum cultivars (*Prunus salicina* Lindl) were studied in two newly established experimental orchards, organic and conventionally managed in the period 2008-2010. In this work we reported the results obtained during two consecutive years, 2011 and 2012. Color, weight, firmness, soluble solid concentration and acidity were measured for fruit quality evaluation. Yield was also determined. In general, the organic fruit had less size and weight. There was little difference in the color of most of the varieties. The organic plums showed a firmness equal to or slightly greater than conventional ones. Acidity was similar in the fruit from both orchards in both years and in 2012 the soluble solid concentration was higher in most of varieties from the organic orchard. The 2008-2012 average accumulated organic fruit was approximately 67% of conventional fruit.

Keywords: *Prunus salicina* L.; Organic farming; yield; fruit quality parameters

INTRODUCTION

The conservation of the natural environment and quality and safety of food are aspects increasingly demanded in modern societies. Organic farming is a certified system that focuses on these two objectives. Organic fruit production is still very low, perhaps because of the difficulty of an adequate control of pests and diseases (Weibel *et al.*, 2007). Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) is an appropriate tree model for organic farming studies because of its agronomic rusticity and its very broad and adaptative genetic basis (Cobianchi *et al.*, 1989; Panavera, 2001). In turn, it shares with other stone fruits agronomic practices, pests and diseases, rootstocks, etc.). Comparative studies of quality of organic plums versus conventional plums are scarce (Lombardi-Boccia *et al.*, 2004; Valavanidis *et al.*, 2009).

The aim of the present work was to compare the standard fruit quality parameters of several Japanese plum varieties produced in organic and conventionally managed orchards.

MATERIALS AND METHODS

The cultivars used in this work were previously listed in García-Galavís *et al.* (2009). All the plum varieties were planted in January 2005 as bare root one year old trees grafted onto Marianna GF 8.1 rootstock. The study was carried out between 2011-2012 in two similar experimental orchards (5500 m² each) located at the IFAPA Centro "Las Torres-Tomejil" in the province of Seville in the Guadalquivir River Valley (SW Spain). Each experimental plot was subjected to a different type of management, one in organic and the other in conventional agriculture. Both orchards have been subjected to similar systems of irrigation and soil tillage. In both orchards, the experiment was set up in a randomised block design with three replications, each containing 6 trees of each cultivar. Fruit for analysis was harvested and processed as described in Daza *et al.* (2012). Size, color, firmness, soluble solid concentration and acidity were measured. The maturity index was calculated as the ratio solid soluble concentration/acidity. Fruit yield was also determined. Statistical analyses were performed using Statistix software (version 9.0, NH Analytical Software, USA).

RESULTS

Fruit size and weight

With regard to fruit size, five cultivars in 2011 and three in 2012 showed significant larger sizes in the conventionally managed orchard. In 2012, the varieties 'Larry-Ann', 'Red Beaut' and 'Friar' showed a significant larger size in the organically managed orchard. The rest of the varieties did not show significant differences (Table 1). The fruit weights of five varieties in 2011 and other five in 2012 were significantly bigger in the conventionally managed orchard, and only 'Larry-Ann' in 2012 showed a significant bigger weight in the organic plot (Table 1).

Fruit color

As reported in Daza *et al.* (2012), the color of varieties included in this study can be adequately evaluated by registering values of a* and b* parameters. In 2011, the color data analysis showed few significant differences in the color of the different varieties in both types of management, highlighting only that 'Fortune', 'Red Beaut', 'Santa Rosa' and 'Showtime' appeared slightly redder in the organically managed orchard, as denoted by their lower b* values (Table 2). In 2012, the only notable difference was observed in 'Angeleno', slightly blacker in the organic plot.

Soluble solid concentration and acidity

In 2011, the concentration of total soluble solids was similar for most of the varieties in both treatments, and significant differences were only observed in 'Black Amber' and 'Primetime', both higher in the conventional orchard (Table 3). In 2012, all the varieties except 'Souvenir', 'Red Beaut', 'Black Amber', and 'Primetime', showed significant higher values in the organic fruit. In general, acidity values were similar for most of the varieties in both orchards and significant differences were only

observed for ‘Golden Japan’ and ‘Friar’ in 2011 and ‘Black Amber’ and ‘Santa Rosa’ in 2012, in all cases slightly lower in the conventionally managed orchard (Table 3).

Fruit firmness and maturity index

In 2011, ‘Red Beaut’, ‘Primetime’ and ‘Santa Rosa’ were firmer in the organically managed orchard, ‘Friar’ was firmer in the conventional one, and the rest of varieties did not show significant differences (Table 4). In 2012, the firmness was slightly higher in the organically managed orchard for most of the varieties, but only ‘Santa Rosa’ with a significant difference. Few differences were also observed in the maturity index. In 2011, ‘Black Amber’, ‘Golden Japan’ and ‘Friar’ were higher in the conventional plot, whereas ‘Fortune’ was higher in the organic. In 2012, significant differences were only observed in ‘Laetitia’ (higher in the organic) and ‘Black Amber’ (higher in the conventional).

Fruit yield

In 2011, the average yield was similar in both orchards, organic production being the 83% of the conventional one. Only four varieties, ‘Larr-Ann’, ‘Showtime’ (higher in organic), ‘Souvenir’ and ‘Black Amber’ (higher in conventional) showed significant differences (Table 5). In 2012 the gap between the two management systems was higher reaching the organic production only the 52% of the conventional orchard. The 2008-2012 accumulated fruit production was higher for all the varieties in the conventionally managed orchard with significant differences in seven cultivars. The mean accumulated fruit of the organic orchard accounted for 67% of the conventional one.

DISCUSSION

Numerous studies compared conventional and organically produced food. In general most studies founded little difference in the composition between both management systems (see reviews of Woese *et al.*, 1997; Dangour *et al.*, 2009; Lima & Vianello, 2011). In addition, comparative studies between organic and conventional fruit showed sometimes erratic results (Lombardi-Boccia *et al.*, 2004; Róth *et al.*, 2007). To avoid the interference in food properties of multiple parameters, in our comparative study were fixed the plum varieties, the year of plantation, type of soil, irrigation and type of pruning, being the fertilization and the control of pests and diseases the key distinctions between both types of management.

In general, the fruit size of several cultivars has been larger in the conventionally managed orchard and the fruit weights were also higher. Little differences in the color were observed, except for some isolated cases. The sugar concentration and the acidity are also important aspects of fruit quality, because they are crucial to the flavor. Although few significant differences have been observed in 2011, there seems to be a slight trend in organic fruit to have a higher concentration of soluble solids, as suggested by results obtained in 2012, what in average showed an increase of 1 point in °Brix. Fruit firmness is a very important aspect of facing the inevitable post-harvest

Madrid 2012

handling and has also a clear influence on the fruit life (Vangdal *et al.*, 2007). In general, the organically managed orchard produced slightly firmer fruit than the conventional one. Our data agreed with those of Weibel *et al.* (2000) who also observed a higher firmness in the organic apples. The maturation index showed few differences, suggesting that fruit from both orchards was in a similar ripeness status.

A higher production in the conventionally managed orchard was observed all the two years, especially in 2012. However, the organic yield in 2012 was similar or slightly higher than the conventional production in 2011. An annual yield fruit increase is expected in young plantations, and in our opinion, the tree development in the organically managed plot could be delayed over the trees in the conventional plot. It will be necessary to evaluate the yield some years more to draw more conclusive data.

ACKNOWLEDGEMENTS

Founding for this research was provided by INIA-ERDF (Project RTA 2010-00046-00-00) and the IFAPA TRANFORMA of Organic Farming (ELTRAT.TRA2010.17).

BIBLIOGRAPHY

- Cobianchi, D., Bergamini, A., Cortesi, A. 1989. El ciruelo. Ed. Mundi-Prensa. Madrid
- Dangour, A.D., Dodhia, S.K., Hayter, A., Allen, E., Lock, K. & Uauy, R. 2009. Nutritional quality of organic foods: a systematic review. *Am. J. Clin. Nutr.* 90, 680-685.
- Daza, A., Camacho, M., Galindo, I., Arroyo, F.T., Casanova, L., Santamaría, C. 2012. Comparative fruit quality parameters of several Japanese plum varieties in two newly established orchards, organic and conventionally managed. *Int. J. Food Sci. Technol.* 47, 341-349.
- García-Galavís, P.A., Santamaría, C., Jiménez-Bocanegra, J.A., Casanova, L. & Daza, A. 2009. Susceptibility of several Japanese plum cultivars to pests and diseases in a newly established organic orchard. *Sci. Hort.* 123, 210-216.
- Lima, G. & Vianello, F. 2011. Review on the main differences between organic and conventional-based foods. *Int. J. Food Sci. Technol.* 46, 1-13.
- Lombardi-Boccia, G., Lucarini, M., Lanzi, S., Aguzzi, A. & Capelloni M. 2004. Nutrients and antioxidant molecules in yellow plums (*Prunus domestica* L.) from conventional and organic productions: a comparative study. *J. Agric. Food Chem.* 52, 90-94.
- Panavera, E. 2001. Ciruelo. Variedades, polinización y calibre. *Agro Latino S. L. Montijo*
- Róth, E., Berna, A., Beullens, K., Yarranrayu, S., Lammertyn, J., Schenk, A. & Nicolai, B. 2007. Postharvest quality of integrated and organically produced apple fruit. *Posth. Biology Technol.* 45, 11-16.

Madrid 2012

- Valavanidis, A., Vlachogianni, T., Psomas, A., Zovoili, A. & Siatis, V. 2009. Polyphenolic profile and antioxidant activity of five apple cultivars grown under organic and conventional agricultural practices. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 1167-1175.
- Vangdal, E., Flatland, S., Nordbø, R. & Børve, J. 2007. Different strategies for foliar applications of calcium in plums (*Prunus domestica* L.). *Act.Hort.* 734, 371–374.
- Weibel, F.P., Bickel, R., Leuthold, S. & Alfoldi, T. 2000. Are organically grown apples tastier and healthier? A comparative field study using conventional and alternative methods to measure fruit quality. *Act. Hort.* 517, 417-426.
- Weibel, F. P., Tamm, L., Wyss, E., Daniel, C., Häseli, A. & Suter, F. 2007. Organic fruit production in Europe: Successes in production and marketing in the last decade, perspectives and challenges for the future development. *Act. Hort.* 737, 163-172.
- Woese, K., Lange, D., Boess, C.H. & Werner, K. 1997. A comparison of organically and conventionally grown foods: results of a review of the relevant literature. *J.Sci. Food Agric.* 74, 281-293.

Tables

Table 1. Comparative fruit size (mm) and weight (g) of several Japanese plum cultivars from conventional (C) or organically (O) managed orchards in 2011 and 2012

Cultivar	Size (mm)				Weight (g)			
	2011		2012		2011		2012	
	C	O	C	O	C	O	C	O
Larry-Ann	56.44 a	53.18 b	48.74 b	51.02 a	111.06 a	95.61 b	74.19 b	83.73 a
Fortune	53.04 a	51.49 a	53.46 a	50.00 b	89.17 a	85.11 a	90.64 a	78.53 b
Souvenir	51.13 a	52.06 a	50.11 a	48.61 a	85.87 a	79.71 a	78.21 a	71.37 b
Songold	52.58 a	53.06 a	48.54 a	48.22 a	85.26 a	85.94 a	69.29 a	67.32 a
Sapphire	55.70 a	52.18 b	50.91 a	49.77 a	104.42 a	87.11 b	82.75 a	79.08 a
Red Beaut	48.41 a	46.95 a	42.57 b	44.23 a	66.43 a	64.53 a	45.32 a	49.02 a
Laetitia	54.77 a	51.51 b	50.65 a	52.56 a	98.48 a	78.64 b	85.66 a	84.32 a
Black Amber	50.61 a	52.62 a	51.31 a	44.54 b	79.20 a	84.69 a	80.73 a	54.29 b
Primetime	57.59 a	55.43 b	53.00 a	52.85 a	112.30 a	98.61 b	88.82 a	89.16 a
Santa Rosa	46.74 a	43.11 b	46.01 a	41.73 b	61.77 a	51.79 b	60.61 a	45.36 b
Golden Japan	41.17 a	41.38 a	38.02 a	39.26 a	41.82 a	41.98 a	33.03 a	35.42 a
Friar	49.12 a	47.93 a	50.81 b	48.09 a	71.78 a	69.11 a	77.60 a	65.21 b
Showtime	50.33 a	49.30 a	46.61 a	47.77 a	77.65 a	72.56 a	61.29 a	65.38 a
Angeleno	nd	nd	46.94 a	48.55 a	nd	nd	71.42 a	68.93 a

For each cultivar, parameter and year, values followed by the same letter were not statistically different ($P < 0.05$)

Madrid 2012

Table 2. Comparative a* and b* color parameters of several Japanese plum cultivars from conventional (C) or organically (O) managed orchards in 2011 and 2012

Cultivar	a*				b*			
	2011		2012		2011		2012	
	C	O	C	O	C	O	C	O
Larry-Ann	22.75 a	21.96 a	15.59 a	13.51 a	17.86 a	14.87 a	3.68 a	1.02 a
Fortune	30.45 a	25.67 b	5.04 a	4.90 a	8.58 a	5.38 b	0.87 a	0.94 a
Souvenir	12.43 a	10.32 a	21.49 a	18.21 b	28.23 a	27.65 a	11.21 a	11.13 a
Songold	-2.01 a	-2.46 a	0.80 a	-0.65 a	37.63 a	36.93 a	23.24 a	23.30 a
Sapphire	18.30 a	15.86 a	23.72 a	22.02 a	10.81 a	13.72 a	11.56 a	10.43 a
Red Beaut	21.89 a	15.32 a	22.74 a	24.23 a	17.54 a	-11.86 b	15.20 a	17.13 a
Laetitia	29.80 a	29.17 a	17.87 b	24.00 a	19.62 a	21.19 a	10.78 a	9.91 a
Black Amber	6.29 a	7.60 a	2.28 a	3.26 a	1.37 a	1.05 a	0.30 a	0.27 a
Primetime	8.45 b	15.13 a	12.21 a	10.63 a	1.10 b	5.14 a	3.12 a	2.13 a
Santa Rosa	26.39 a	22.83 a	28.56 a	24.94 a	12.36 a	8.96 b	13.16 a	10.30 a
Golden Japan	-1.70 a	-1.23 a	0.45 a	0.35 a	36.75 a	35.15 a	38.85 a	39.09 a
Friar	10.31 a	10.36 a	6.63 a	6.27 a	1.96 a	4.04 a	1.61 a	1.52 a
Showtime	26.91 a	25.11 a	26.48 a	28.03 a	20.47 a	9.16 b	17.38 a	18.69 a
Angeleno	nd	nd	7.84 a	6.04 a	nd	nd	-0.21 b	-2.24 a

For each cultivar, parameter and year, values followed by the same letter were not statistically different ($P<0.05$)

Table 3. Comparative soluble solid concentration and titratable acidity of several Japanese plum cultivars from conventional (C) or organically (O) managed orchards in 2011 and 2012

Cultivar	Solubles solids (°Brix)				Acidity (g malic acid/100 ml)			
	2011		2012		2011		2012	
	C	O	C	O	C	O	C	O
Larry-Ann	18.74 a	18.53 a	15.67 b	16.97 a	1.29 a	1.44 a	1.16 a	1.09 a
Fortune	15.97 a	16.44 a	13.90 b	15.82 a	1.21 a	1.13 a	0.94 a	0.97 a
Souvenir	13.81 a	14.14 a	14.49 a	15.06 a	1.62 a	1.67 a	1.57 a	1.73 a
Songold	12.94 a	13.40 a	14.86 b	17.81 a	1.18 a	1.15 a	0.89 a	0.99 a
Sapphire	13.11 a	13.61 a	13.10 b	14.03 a	1.07 a	1.02 a	0.93 a	0.94 a
Red Beaut	10.59 a	10.05 a	9.73 a	9.53 a	2.41 a	2.28 a	1.93 a	1.94 a
Laetitia	12.67 a	12.69 a	13.45 b	15.11 a	1.35 a	1.38 a	1.05 a	1.00 a
Black Amber	12.49 a	11.50 b	13.20 a	13.02 a	1.71 a	1.66 a	1.03 b	1.14 a
Primetime	14.94 a	13.54 b	13.14 a	13.59 a	1.29 a	1.31 a	1.18 a	1.19 a
Santa Rosa	13.53 a	13.71 a	12.91 b	14.89 a	1.43 a	1.42 a	1.77 b	1.91 a
Golden Japan	11.33 a	11.84 a	11.33 b	12.03 a	1.75 b	1.91 a	1.61 a	1.72 a
Friar	12.74 a	12.91 a	13.94 b	14.79 a	1.13 b	1.43 a	1.02 a	1.12 a
Showtime	14.14 a	13.63 a	11.13 b	11.96 a	2.82 a	2.68 a	2.04 a	2.28 a
Angeleno	nd	nd	14.03 b	15.12 a	nd	nd	0.61 a	0.59 a

For each cultivar, parameter and year, values followed by the same letter were not statistically different ($P<0.05$)

Madrid 2012

Table 4. Comparative fruit firmness and maturity index of several Japanese plum cultivars from conventional (C) or organically (O) managed orchards in 2011 and 2012

Cultivar	Fruit firmness (kg. cm ⁻²)				Maturity index			
	2011		2012		2011		2012	
	C	O	C	O	C	O	C	O
Larry-Ann	3.47 a	3.75 a	3.34 a	3.22 a	14.79 a	13.21 a	13.72 a	15.97 a
Fortune	3.03 a	2.98 a	3.25 a	3.60 a	12.35 b	13.52 a	14.96 a	15.97 a
Souvenir	2.08 a	2.26 a	2.07 a	2.34 a	9.05 a	8.45 a	8.87 a	8.69 a
Songold	2.13 a	2.51 a	1.74 a	1.90 a	11.41 a	11.30 a	16.38 a	17.48 a
Sapphire	2.74 a	2.66 a	2.14 a	2.36 a	12.49 a	13.63 a	14.42 a	14.99 a
Red Beaut	1.29 b	1.79 a	1.45 a	1.65 a	3.96 a	4.39 a	4.88 a	4.71 a
Laetitia	2.64 a	2.44 a	2.15 a	2.17 a	9.51 a	9.38 a	12.51 b	14.84 a
Black Amber	2.97 a	2.71 a	1.50 a	1.69 a	7.46 a	7.01 b	12.88 a	11.49 b
Primetime	2.67 b	3.17 a	2.39 a	2.87 a	12.20 a	10.96 a	11.43 a	11.88 a
Santa Rosa	1.38 b	1.71 a	1.41 b	1.82 a	9.58 a	10.14 a	7.68 a	7.90 a
Golden Japan	1.44 a	1.40 a	1.01 a	1.31 a	6.25 a	5.73 b	6.54 a	6.51 a
Friar	3.64 a	3.10 b	3.38 a	3.67 a	11.98 a	9.41 b	13.96 a	13.45 a
Showtime	2.36 a	2.32 a	1.90 a	1.96 a	4.94 a	4.97 a	5.34 a	5.36 a
Angeleno	nd	nd	2.75 a	2.91 a	nd	nd	22.60 a	25.52 a

For each cultivar, parameter and year, values followed by the same letter were not statistically different ($P<0.05$)

Table 5. Comparative yield (kg/tree) of several Japanese plum cultivars from conventional (C) or organically (O) managed orchards in 2011 and 2012, and 2008-2012 accumulated production

Cultivar	Year				Accumulated (2008-2012)		
	2011		2012		C	O	O/C
	C	O	C	O			
Larry-Ann	9.44 b	22.88 a	50.55 a	30.00 b	115.32 a	83.54 a	0.72
Fortune	28.00 a	25.55 a	56.66 a	27.78 a	119.66 a	79.33 a	0.66
Souvenir	33.88 a	12.66 b	54.33 a	19.00 a	135.87 a	59.32 b	0.44
Songold	6.16 a	15.00 a	82.22 a	43.33 b	192.71 a	119.00 b	0.62
Sapphire	19.11 a	13.55 a	56.66 a	20.00 a	131.10 a	75.21 b	0.57
Red Beaut	16.33 a	9.33 a	38.66 a	24.00 b	87.99 a	48.66 b	0.55
Laetitia	35.55 a	26.11 a	65.55 a	30.00 b	146.43 a	114.44 a	0.78
Black Amber	49.09 a	3.88 b	51.11 a	37.77 a	153.86 a	94.31 b	0.61
Primetime	2.88 a	5.72 a	45.55 a	18.89 a	142.76 a	58.94 b	0.41
Santa Rosa	6.72 a	10.11 a	21.11 a	8.83 b	52.49 a	35.60 a	0.68
Golden Japan	55.00 a	62.22 a	104.44 a	70.55 b	304.93 a	265.93 a	0.87
Friar	55.27 a	37.77 a	36.66 a	12.33 a	154.93 a	89.10 b	0.57
Showtime	11.44 b	28.05 a	41.00 a	22.66 a	114.94 a	110.55 a	0.96
Angeleno	nd	nd	34.66 a	20.00 a	nd	nd	nd
Mean	25.29 a	20.98 a	54.19 a	28.05 b	142.54 a	94.92 b	0.67

For each cultivar and year, values followed by the same letter were not statistically different ($P<0.05$)

Madrid 2012

RESPUESTA DE UNA VARIEDAD DE CEREZO DE CICLO LARGO FRENTE A DIFERENTES ESTRATEGIAS DE RIEGO EN EL VALLE DEL JERTE.

E. Nieto¹, C. Campillo², R. Fortes², M.H. Prieto².

¹Centro de Agricultura Ecológica y de Montaña. Gobierno de Extremadura. Avda de España, nº 43, 10600 Plasencia.

²Centro de Investigación Agraria “Finca la Orden”. Gobierno de Extremadura. Ctra. A-V Km 372. 06187 Guadajira (Badajoz).

Resumen

Durante las campañas de los años 2010 y 2011 se estudió el efecto de la aplicación de diferentes estrategias de riego sobre la producción de cerezos adultos (*Prunus avium*) en un cultivar de ciclo largo, Lapins, en una plantación comercial del Valle del Jerte (España), en la que se estableció un ensayo. El ensayo constaba de 4 tratamientos de riego establecidos en función de la evapotranspiración de cultivo (ETc): riego para cubrir las necesidades hídricas de la plantación (100% ETc); riego precosecha con el 100% ETc y 50% ETc en postcosecha (50%ETc); riego precosecha con el 100% ETc y 25%ETc en postcosecha (25%ETc) y riego según las prácticas habituales de la zona (T), que consiste en no regar en precosecha y un déficit severo en postcosecha.

Los resultados muestran que el tratamiento que incluye el deficitario controlado del 25% de la ETc en postcosecha aplicado durante dos años consecutivos, pudo mantener el rendimiento y calidad del fruto con una reducción de agua aplicada hasta el 60%.

Palabras Clave: Dosis de riego, potencial hídrico del tallo, eficiencia, RDC.

INTRODUCCIÓN

La superficie destinada al cultivo del cerezo en España ascendía en el año 2010 a 32.647 ha. Extremadura con 9.677 has es la segunda zona productora nacional. Un aspecto llamativo de la producción nacional de cerezas son los bajos rendimientos medios comparados con los de otras zonas productoras del Mundo: en el año 2008 el rendimiento medio nacional era de 3.261 kg/ha, frente a los 10.682 kg/ha de Turquía. Esta baja productividad es debida a que cerca del 70% de la superficie cultivada es de secano (MARM). Esta baja productividad compromete la rentabilidad y competitividad del cultivo.

En 2008, la superficie total de cerezos en la provincia de Cáceres era de 6.970 has de las cuales 390 has estaban de regadío. La superficie de cultivo en secano tenía una producción de 3.550 kg/ha, mientras que en regadío ascendía a 6.600 kg /ha (MARM). El cerezo es un cultivo tradicional de secano en el Valle del Jerte, en el que sin embargo, es bastante habitual aplicar riegos de apoyo en la fase postcosecha, para evitar un estrés excesivo en esta fase. La casi total ausencia de lluvias estivales junto con la presencia de suelos con poca capacidad de retención de agua y poco profundos, provoca condiciones de estrés muy severas durante el verano. Sin embargo, una alta disponibilidad de agua en esta fase puede dar lugar a un excesivo crecimiento vegetativo que además de incrementar los costes de cultivo, puede llegar a perjudicar a la producción del año siguiente. Los riegos precosecha no son una práctica habitual en

Madrid 2012

la zona, a pesar de que los cálculos de necesidades hídricas indican la posible presencia de estrés en este periodo, dependiendo de la climatología y de la fecha de recolección de las variedades, de forma que las probabilidades aumentan en las variedades tardías.

Debido al aumento previsto de la demanda futura de agua e incertidumbres relacionadas con el cambio climático, hay una corriente presión sobre la agricultura para ser más eficiente en el uso de agua, especialmente en situaciones de sequía (Marsal, 2010). Las estrategias de riego tales como el riego deficitario controlado (RDC), que reducen el riego durante determinados periodos del ciclo de cultivo considerados como menos sensibles al déficit hídrico (Chalmers *et al.* 1981), se pueden utilizar para reducir las asignaciones de agua para riego de plantaciones frutales y, sin embargo mantener los rendimientos (Behboudian y Mills 1997; Naor 2006; Fereres y Soriano 2007).

Para lograr niveles adecuados de rentabilidad en la producción de cerezas deben cumplirse tres premisas básicas: precocidad en la entrada en fructificación, regularidad de la producción y producción de frutos de excelente calidad (Claverie *et al.* 1999). La necesidad de aumentar la precocidad, los rendimientos y la calidad de frutos en el Valle del Jerte para satisfacer los mercados exigentes llevó a la incorporación de nuevas técnicas de cultivo, como portainjertos, variedades, densidad de plantación, sistemas de formación y poda, riego tecnificado, desarrollados en otras zonas productoras del Mundo (Edin y Garcin 1994; Kappel y Lichou 1994; Edin *et al.* 1997; Meland 1998; Claverie *et al.* 1999; Facteau y Cahn 2000). Para todas estas técnicas, la respuesta que se va a obtener depende de las condiciones agroclimáticas en las que se aplican, por lo que suele ser fundamental un verificación y adaptación a las condiciones locales para obtener buenos resultados.

El objetivo del presente trabajo fue comprobar cuales son las necesidades hídricas del cerezo en la zona y conocer el comportamiento de una variedad de ciclo largo ante diferentes estrategias de riego deficitario controlado (RDC), en relación a las estrategias que utilizan los actualmente los agricultores de la zona y su efecto sobre la producción y calidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en los años 2010 y 2011 en una plantación comercial de cerezos variedad Lapins sobre patrón Avium, ubicada en el municipio de El Torno (agricultor de la Agrupación de Cooperativas del Valle del Jerte), provincia de Cáceres, España, a 463 m de altitud y suelo de textura franco-arenosa. La plantación al inicio del ensayo tenía seis años, con marco de plantación de 5x5 y sistema de formación en vaso bajo.

El sistema de riego empleado es el localizado mediante goteo. La línea portagoteros contaba con un gotero autocompensante de 4 l/h en cada árbol durante 2010 y dos goteros del mismo caudal en la temporada de riego del 2011. En el año 2010 el agua de riego procedía de un pozo de sondeo ubicado en la parcela, la plantación dispone de un cabezal de riego y los controladores necesarios para la completa automatización del sistema, con las obras realizadas por la Comunidad de Regantes de El Torno a través del Plan Nacional de Regadíos, ya en el año 2011 el agua procedía de una garganta almacenada en una balsa de riego. La instalación de riego está

Madrid 2012

completamente automatizada disponiendo de un programador de riego que activa la apertura y cierre de las electroválvulas.

Las labores culturales, con excepción del riego, fueron las normalmente habituales en la zona, realizadas por el agricultor. La precipitación media anual en la zona es de 950 mm, y las lluvias se concentran principalmente en otoño y primavera.

Los tratamientos se aplicaron en función de la Evotranspiración de cultivo (ET_c), a partir de la fórmula $ET_c = ETo \times Kc$; donde ETo es la evapotranspiración de un cultivo de referencia, para este dato se utilizó una estación agrometeorológica perteneciente a la red de estaciones de la Red de Asesoramiento al Regante del Gobierno de Extremadura (REDAREX), situada en Valdastillas. La Kc , es el coeficiente de cultivo del cerezo según los valores tabulados en FAO 56 (Allen et al, 1998), corregidos según Goldhamer and Sneider, (2000) en función del estado de desarrollo de los árboles (suelo sombreado), mediante un coeficiente corrector.

Desde las últimas lluvias de primavera hasta la recolección (mayo-junio) todos los tratamientos recibieron riego equivalente a 100% de la ET_c (año 2011). A partir de la recolección se impusieron tres tratamientos de riego: Riego a plena demanda, 100% ET_c (T1), y RDC reponiendo el 50 % ET_c (T2), y 25 % ET_c (T3). Y el cuarto tratamiento fue el control (T4) que es el tratamiento utilizado por los agricultores de la zona con estrés severo en poscosecha y sin riego en precosecha. El diseño experimental fue de bloques completamente al azar, cada tratamiento de riego consta de 4 repeticiones, por lo tanto 16 parcelas experimentales constituidas por 4 árboles cada una (64 árboles en total).

Se determinó el potencial hídrico del tronco (SWP) a mediodía solar desde primeros de mayo a primeros de noviembre durante 2010 y 2011, las mediciones se han realizado semanalmente con una cámara de presión portátil (PUMP-UP, PMS Instruments), según la metodología propuesta por McCutchan y Shackel (1992).

La cosecha de la fruta se realizó según el criterio del agricultor. En la recolección se pesó en campo, por separado, los frutos de cada uno de los cuatro árboles de medida de cada parcela elemental, tomándose el peso total (peso de frutos/árbol), con una balanza digital, se calculó el rendimiento promedio por árbol y la eficiencia de producción: rendimiento total por área de sección transversal de tronco ($kg \cdot cm^{-2}$ de ASTT).

Posteriormente se realizó un total de cuatro submuestras de las 4 ramas selecciones en los 4 puntos cardinales, para luego realizar la distribución porcentual de los frutos según la categoría de calibre que se utilizan en la comercialización de cerezas frescas (Tabla 1), número de frutos en cada grupo y el peso de los mismos (n° de frutos/árbol, peso de frutos por calibre/árbol, n° de frutos por calibre/árbol). Con estos datos se han obtenido las producciones por hectárea, así como el peso medio de los frutos.

Tabla 1.- Categorías comerciales de cerezas en función del calibre de los frutos.

Calibre (mm)	+ 22	+ 24	+ 26	+28	+30
Denominación comercial	M	L	XL	Jumbo	Premium

Madrid 2012

Para las evaluaciones de calidad se tomaron muestras de 25 frutos de las categorías de calibre predominante y se determinó individualmente, color, firmeza, contenido de sólidos solubles (CSS) y acidez titulable (AT). La firmeza se midió con un texturómetro, el porcentaje de sólido solubles se midió con un refractómetro METTLER y la AT se determinó en forma volumétrica por titulación con NaOH 0,1 N potenciómetro hasta pH=8,1. Se calculó la relación CSS/AT.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El riego se inició el 22 de junio en el primer año y 16 de junio el segundo. En ambos años todos los tratamientos recibieron los mismos volúmenes de agua hasta recolección, excepto el control (T) que no se regó.

El agua de riego aplicada varió entre los 221 mm de T1 y los 46 mm de T4 en el año 2010 y entre 463 y 89 mm de esos mismos tratamientos para el año 2011. El 2010 fue un año más lluvioso y con una ETo sensiblemente mas baja que el año 2011. Sin embargo, las diferencias interanuales en los volúmenes de agua aplicados, muy superiores en el año 2011, fueron debidas en mayor medida al mayor desarrollo de las copas de los árboles que incrementó sensiblemente el coeficiente de corrección de Kc (Tabla 2).

La reducción media de agua en los 2 años, respecto al tratamiento de 100% de ETc fue, entre 445 mm en el tratamiento más estresado (25% ETc) y 251 mm en el tratamiento de estrés más moderado (50% ETc), lo que representa con un volumen de agua entre el 25 y 50 % del total del agua empleada para regar la plantación, de acuerdo a sus necesidades hídricas en poscosecha.

Tabla 2.- Volumen de agua aplicada en mm, ETo (mm) y ETc (mm) en el período poscosecha, y precipitación efectiva durante el ensayo. Los porcentajes de reducción se calculan cada año con respecto de la ETc.

Volumen de agua aplicada (mm.). Var. LAPINS 2010-2011

Antes de recolección (mm)			Después de recolección										
			T1 (100 %)		T2 (50%)		T3 (25%)		T4 (T)		ETO	ETC	Pe
Riego	Pe		mm	%	mm	%	Mm	%	mm	%	mm	mm	mm
2010			221	75%	125	43%	75	26%	46	16%	564	293	41
2011	42	113	463	80%	308	54%	164	29%	89	16%	610	575	25

La Figura 1 muestra el patrón de aplicación de agua durante el año 2010 y 2011, que tuvo un aspecto muy similar al del año 2010. En la fase precosecha los riegos apenas establecen diferencias entre tratamientos, ya que la demanda evaporativa fue baja y quedó parcialmente cubierta por las lluvias, pero es en la fase postcosecha donde se establecen diferencias claras en la dosis de agua recibida por cada tratamiento, que al final del periodo de riego prácticamente se iguala con la ETc.

Madrid 2012

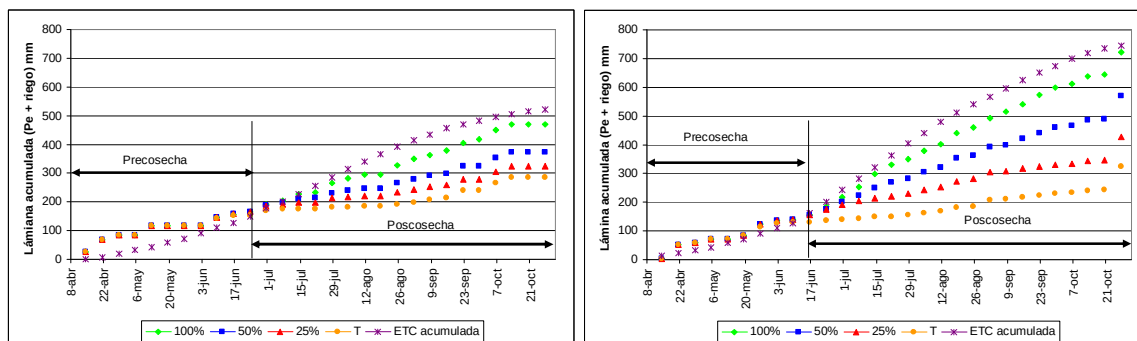


Figura 1. Lámina de agua acumulada (riego + precipitación efectiva), mm en los diferentes tratamientos de riego durante el 2011.

Las diferentes dosis de riego aplicadas en los tratamientos dieron lugar a diferencias en el estado hídrico de los árboles a lo largo del ciclo de cultivo, como refleja la evolución del SWP (figuras 2a y 2b). Desde el 13 de julio en 2010 y 26 de julio en 2011 se detectaron diferencias significativas entre tratamientos, hasta finales de octubre en ambos años. Las lluvias otoñales igualaron el estado hídrico de todos los tratamientos a principios de noviembre. El tratamiento más regado mantuvo potenciales más altos y el control del agricultor los más bajos, con valores intermedios para los otros dos tratamientos, siendo las diferencias entre tratamientos más claras el segundo año de ensayo. Incluso en el tratamiento regado según las necesidades hídricas se produjo un descenso del SWP al avanzar el ciclo a medida que aumentó la temperatura y demanda evaporativa. La intensidad del estrés fue mayor en los meses de agosto y septiembre, en correspondencia de una demanda atmosférica alta.

En T1 los valores más bajos de SWP fueron de -1,2 MPa (del 29 de julio al 28 de septiembre de 2010) y -1,0 MPa (26 de julio al 23 de septiembre de 2011), mientras que en los tratamientos más deficitarios llegaron a valores inferiores a -2 MPa durante el mes de agosto de 2010 y -1,8 MPa durante el mes de agosto del siguiente ciclo. En 2011 los valores más bajos fueron de -1,4; -1,7 y -1,9 MPa para los tratamientos 50 % ETC, 25 % ETC y Testigo, respectivamente. El tratamiento testigo llegó a alcanzar valores inferiores a 2,0 MPa en el mes de agosto en 2010.

Madrid 2012

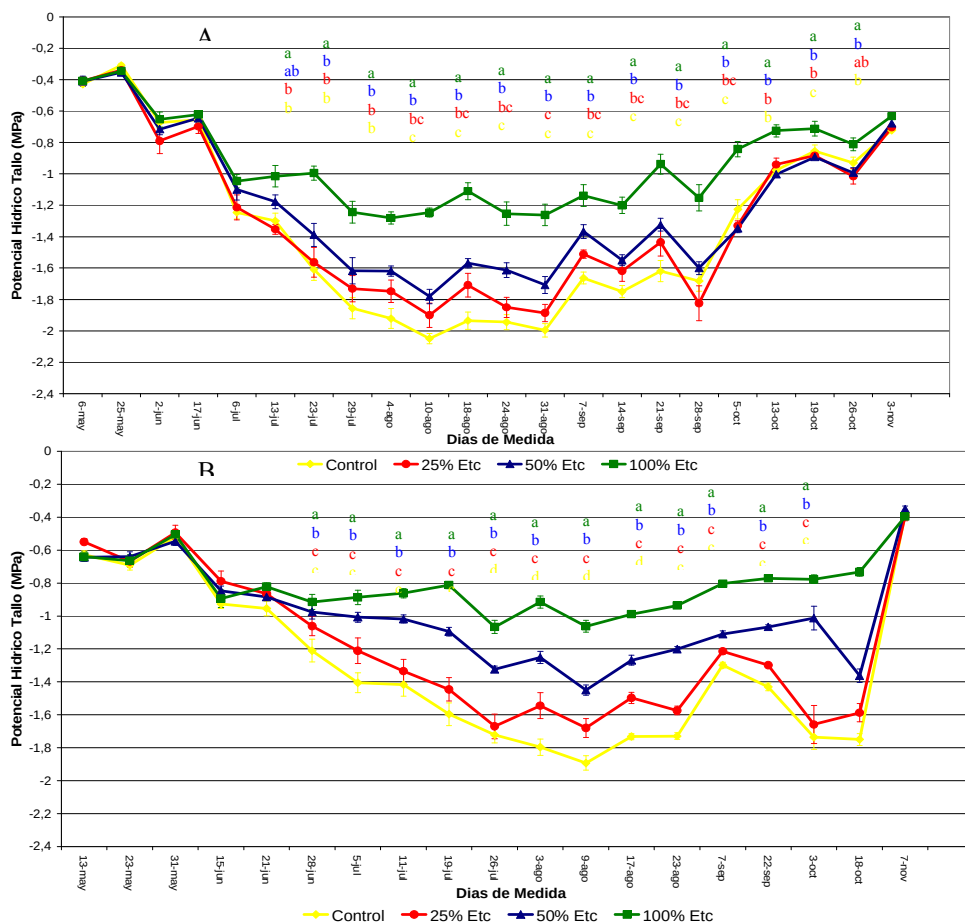


Figura 2.- Evolución estacional del potencial del tallo a mediodía de cerezo “Lapins” durante los tratamientos de riego en el 2010 (A) y 2011 (B). Los símbolos representan la media de 8 mediciones. Barras verticales indican error estándar de las medias, barras no visibles están dentro del área del símbolo.

Según Shakel *et al.*, (1997) el crecimiento e brotes de cerezo se detiene con potenciales inferiores a $-1,5$ MPa, que puede considerarse como un estrés moderado. En este trabajo los tres tratamientos deficitarios rebasaron ese umbral, por lo que estuvieron sometidos a déficit hídrico. Aunque de cara a establecer indicadores para cuantificar el grado de estrés soportado por los árboles es importante tener en cuenta la demanda evaporativa (Mc Cutchan y Shackel 1992).

En la tabla 3 se presenta algunos parámetros relacionados con la calidad de la fruta correspondientes a la campaña del año 2011, que es donde se refleja la influencia de los tratamientos de riego del año 2010, así como del tratamiento precosecha del 2011. No se obtuvieron diferencias entre tratamientos para ninguno de los parámetros medidos, salvo en el contenido en ácido málico y el índice de maduración, ya que el tratamiento mas regado tuvo menor concentración de este ácido y un índice de maduración mas alto.

Madrid 2012

Tabla 3.- Parámetros de calidad en frutos de calibre de 26,1 a 28 mm (denominados XL) después de los tratamientos de riego

Ciclo	Tratamiento	F máx (N)	Dureza (N/mm)	CSS (%) (Brix)	% Ac. Mállico	pH	Índice de maduración CSS/AT
2011	T	1,18	2,34	16,25	0,53ab	3,70	30,83
	25 %	1,07	2,15	16,06	0,55b	3,79	29,21
	50 %	1,22	2,41	15,81	0,53b	3,80	29,66
	100 %	1,16	2,32	16,01	0,49a	3,91	32,49

La producción total de cereza no difirió entre tratamientos en el año 2011, sin embargo, al analizar la producción acumulada de los años 2011 y 2012, el tratamiento regado con un 25% de la ETc fue el mas productivo.

En cuanto a la distribución por calibres de la producción, se observa (tabla 4) que el tratamiento del 50% obtuvo una producción similar a los otros tratamientos deficitarios, sin embargo mayor distribución de calibres entre Jumbo y Premium, obteniéndose una producción mayor que el tratamiento 100% que obtuvo un mayor crecimiento vegetativo y una menor producción. Este aspecto debe ser estudiado en el comportamiento del árbol en próximas campañas de riego para corroborar este resultado. Para el cálculo de rendimientos comerciales se consideraron la producción total, las categorías comerciales en función del calibre de frutos y la presencia de frutos sin defectos. En todos los tratamientos los frutos fueron considerados de alta calidad comercial.

Tabla 4. Distribución por categorías de calibres para los cuatro tratamientos de riego en cerezo cv. Lapins.

	LAPINS 2011 (kg/ha)			
	T	25 %	50 %	100 %
S	35	13	0	17
L	1.006	869	281	597
XL	2.414	2.811	1.686	1.687
JUMBO	2.350	2.591	3.088	2.555
PREMIUM	1.138	1.443	2.042	969
Rendimiento comercial	6.943	7.727	7.097	5.826

De este modo a partir de los datos obtenidos durante la presente campaña (2011-2012), podemos indicar que el rendimiento comercial para cada tratamiento varió entre 12.800 y 18.400 kg/ha acumulados en los dos temporadas (2011-2012), siendo el riego RDC de 25% de ETc el que logra mayores valores con un incremento del 23 % respecto a la práctica habitual de los agricultores de la zona y el 43% en relación al tratamiento con aplicación del 100% de la ETc. Estos datos deben ser confirmados en el tercer año de aplicación del riego deficitario que se obtendrá en la campaña 2012-2013.

Los resultados obtenidos indican que el déficit hídrico tuvo influencia sobre la precocidad del cultivo, logrando un rendimiento superior a las 12t/ha, en el tercer año

Madrid 2012

desde la implantación de los tratamientos de riego, y un total acumulado superior a las 22 t/ha entre el sexto y octavo año.

AGRADECIMIENTOS.

Gobierno de Extremadura y al centro de investigación Finca La Orden-Valdesequera por la financiación de este trabajo mediante la ayuda a proyectos internos **LOI1107001** cofinanciada con fondos FEDER.

Agrupación de Cooperativas Valle del Jerte por la financiación del proyecto “Optimización de la aplicación de los recursos hídricos en el cultivo del cerezo en el Valle del Jerte”.

CONCLUSIONES

La aplicación de riego deficitario controlado reponiendo el 25% de la ETc en poscosecha, mantiene el rendimiento de la fruta en niveles similares a los árboles totalmente regados, mientras el ahorro de agua es del 60 %.

Las diferentes estrategias de riego deficitario tuvieron producciones con una calidad similar, mientras que el tratamiento regado según las necesidades hídricas presentaron índices de maduración más altos, con menos acidez.

BIBLIOGRAFÍA

- Allen, R.G.; Pereira, L.S.; Raes, D.; Smith, M. 1998. Crop evapotranspiration. Guidelines for computing crop water requirements. FAO Irrigation and Drainage paper No 56. Rome, Italy, pp 15-27.
- Edin, M.; Lichou, J.; Saunier, R. 1997. Cerise, les variétés et leur conduite. Le cerisier. Centre de Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes, Paris. 239 p.
- California.
- Facteau, T.J.; Cahn, H. 2000. Cherry rootstock trials in Oregon. Good Fruit Grower 51(9): 48-50.
- Kappel, F.; Lichou, J. 1994. Flowering and fruiting of “Burlat” sweet cherry on size-controlling rootstock. Hort. Science 29(6): 611-612.
- Marsal, J.; Lopez, G.; Del Campo, J.; Mata, M.; Arbones, A.; Girona, J. 2010. Postharvest regulated deficit irrigation in ‘Summit’ sweet cherry: fruit yield and quality in the following season. Irrigation Science.
- Meland, M. 1998. Yield and fruit quality of “Van” sweet cherry in four high density production systems over seven years. Acta Hort. 468: 425-432.

Madrid 2012

INCIDENCE OF PRUNE DWARF (PDV), PRUNUS NECROTIC RINGSPOT (PNRSV) AND APPLE CHLOROTIC LEAFSPOT (ACLSV) VIRUSES IN SWEET CHERRY PLANTATIONS OF SALAMANCA PROVINCE (SPAIN)

Pérez-Sánchez, R.*; Morales-Corts, M.R.; García-Benavides, P.; Hernández-García, M.; Gómez-Sánchez, M.A.

Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales (Universidad de Salamanca). Avda. Filiberto Villalobos, 119. 37007-Salamanca. Spain. e-mail: rodrigopere@usal.es Tel: +34-923-29-4690 Ext 3561; Fax: +34-923-29-4774;

Abstract

The incidence of *Prunus Necrotic Ringspot* (PNRSV), *Apple Chlorotic Leafspot* (ACLSV) and *Prune Dwarf* (PDV) viruses in the two main sweet cherry producing areas of Salamanca province (Spain) –“Sierra de Francia” and “Arribes del Duero”- was investigated during the year 2009. Young leaf samples were taken from a total of one hundred and seventy five sweet cherry trees, that corresponding to 17 cultivars, and were tested by using DAS-ELISA test (Clark and Adams, 1977). Immunological responses were evaluated by reader (Multiscan Plus, Labsystem, UK) at 405 nm, considering as positive samples, all those exceed twice and half the absorbance value of healthy controls. ELISA-results showed that a high number of sweet cherry trees of Salamanca province (72.00%) were infected by at least one of the viruses analyzed. PDV recorded the highest affection degree (62.28% infected trees), followed by ACLSV and PNRSV (16.00 and 13.14%, respectively). With respect to the viruses' combination, there was no relationship between infections of the three virus studied. PDV and ACLSV were the viruses that most frequently appeared in combination (8.57% of cherry trees). Regarding with the producing areas, “Sierra de Francia” was the region with higher number of sweet cherry trees infected, probably due to the important change of vegetal material with other near areas, such as Valle del Jerte (Extremadura). ACLSV was the only virus that was not detected in “Arribes del Duero”. It was also observed that traditional cultivars showed higher infection degree than those commercial. So that, the sweet cherry trees of the Salamanca province are widely affected by the infection of these three viruses studied, being necessary to address a sanitation program (e.g. in-vitro regeneration) in order to ensure the future of this fruit crop.

Key words: Stone fruits, cherry, *Prunus avium*, ELISA, virus

INTRODUCTION

The sweet cherry (*Prunus avium* L.) is a deciduous tree originated around the Black and Caspian Seas. It is diploid species ($2n=16$), allogamous, generally self-incompatibility, that is mainly cultured for its edible fruits. Sweet cherries are used for fresh consumption and to produce jam, jelly, stewed fruit, marmalade, syrup and several types of soft drinks. By 2010, world production of sweet cherry was 2.06 million metric tons (Faostat, 2010). Turkey, the United States, Iran, Italy, Spain, Uzbekistan and Romania are the most important sweet cherry producing countries (approximately 63% of world sweet cherry production). Concretely, Spain (the second European producer) has 23,800 ha dedicated to sweet cherry production and produces 80,300 metric tons of

Madrid 2012

fruit per year. The main sweet cherry producing areas in Spain are the Jerte river valley (34%), Aragón-Catalonia (34%), high altitude areas of Jaén-Granada (10%) and the mountains of the Valencian Community (10%). In these regions, all the sweet cherries are harvested by hand at firm-mature stage to reduce bruising. Early-season production areas begin harvest at the end of April and continue through June, midseason production areas harvest from May through June and late-season production areas harvest from May to July (Negueroles, 2005). Sweet cherry is mainly cultured on terraces at different altitudes due to the steepness of the hill slopes. Farms are usually family-run or cooperatives.

With respect to phytosanitary stage, sweet cherry trees are susceptible to a range of pest and diseases; this increases the challenge of profitable production. Moreover, grafting is the most common asexual method for propagating cherry fruit trees that contributing to the maintenance and spread of diseases. Among them, viral diseases show special relevance because they often are asymptomatic and cause significant economic losses through lower yields and reduced quality of plant products. Some of the most widespread viruses affecting, among other *Prunus* species, to the sweet cherry trees are: *Prune Dwarf Virus* (PDV), *Prunus Necrotic Ringspot Virus* (PNRSV) and *Apple Chlorotic Leafspot Virus* (ACLSV). PDV is a member of the *Ilarvirus* genus (*Bromoviridae* family), composed by a tripartite genome and isometric to bacilliform particles (Fauquet *et al.* 2005), that causes necrotic and chlorotic spots on cherry leaves (Massart *et al.*, 2008). PNRSV is also a member of the *Ilarvirus* group of the *Bromoviridae* family which has a tripartite genome, where RNA1 and RNA2 encode proteins involved in viral replication and RNA3 encodes the 3a (putative movement protein, MP) and the 3b protein (coat protein, CP) (Paduch and Rejczak, 2011). Sweet cherry trees infected with this virus exhibit a range of symptoms from none to a severe rugose mosaic disease, depending upon the virus strain or isolate (Howell and Mink, 1988). Finally, ACLSV is the type species of the genus *Trichovirus* (*Betaflexiviridae* family) which is composed of a filamentous particle containing a single coat protein of 22K and a polyadenylated plus-sense ssRNA of 7.5×10^3 nucleotides (Nakahara *et al.* 2011). Infected trees show deformation and discolouration (russet rings, pox and necrotic spots) in sweet cherries (Rana *et al.*, 2011). All these three viruses share similar biological characteristics, like being transmitted by graft, pollen and seed, that contribute to their widespread distribution and they can appear in single or in mixed infections, affecting fruit yield, fruit maturity and tree growth (Uyemoto and Scott, 1992).

Many works about PDV, PNRSV and ACLSV viruses in sweet cherry have been reported (Cağlayan *et al.*, 2008; Mandić *et al.*, 2007; Milusheva and Borisova, 2005; Sipahioglu and Baloglu, 2006; Suchá and Svobodová, 2010; among others). However, there have been no studies about presence and distribution of these three viruses in sweet cherry trees of Spain. This research analyzes the incidence of PDV, PNRSV and ACLSV viruses in *Prunus avium* trees of the two main sweet cherry producing areas of Salamanca province (Spain).

Madrid 2012

MATERIALS AND METHODS

Source of plant material

Field inspections and sample collections were carried out in the two main sweet cherry producing areas -“Arribes del Duero” and “Sierra de Francia” of Salamanca province (located North of Jerte river valley) during the year 2009. Young leaf samples were taken from a total of one hundred and seventy five sweet cherry trees, that corresponding to the following sweet cherry cultivars “Ambrunés”, “Burlat”, “Del País”, “Del País Temprana”, “Early Belly”, “Garnet”, “Jarandilla”, “Lamper”, “Mollar”, “Monzón”, “Moracha”, “Pico Negro”, “Ramón Oliva”, “Starking”, “Summer Charm”, “Sunburst” and 4-70, from April to June. They were kept in cooled bags during transportation to the laboratory. All the analyses were carrying out in the Regional Diagnostic Center of Junta de Castilla y León (Aldearrubia, Salamanca, Spain).

DAS-ELISA method

All samples were tested by using Double Antibody Sandwich (DAS) ELISA method (Clark and Adams, 1977). Leaves (0.02 g) were homogenized in 4 ml of extraction buffer 2.40 g tris-hydroxymethyl, 8 g NaCl, 20 g PVP (Polyvinylpyrrolidone-MW 2400), 0.20 g KCl, 0.50 g Tween-20 and 0.20 g NaN₃ in 1 litter distilled water (pH 7.4). The DAS-ELISA was carried out by coating the plates with polyclonal IgG, diluted in coating buffer [1.59 g Na₂CO₃, 2.93 g NaHCO₃ and 0.20 g NaN₃ in 1 litter distilled water (pH. 9.6). The prepared samples were incubated with specific polyclonal IgG overnight at 4°C. The positive reaction was revealed by alkaline phosphatase – linked goat antimouse (IgG-AP) conjugate and relative substrate which is p-nitrophenyl phosphate (pNPP) in diethanolamine buffer (Cambra *et al.*, 1994). Two wells for positive, negative and buffer controls were included per plate. Commercial antiserum for *Prune Dwarf Virus* (PDV), *Prunus Necrotic Ringspot Virus* (PNRSV) and *Apple Chlorotic Leafspot Virus* (ACLSV) (Bioreba, Switzerland) were used. Immunological responses were evaluated by reader (Multiscan Plus, Labsystem, UK) at 405 nm, considering as positive samples, all those exceed twice and half the absorbance value of healthy controls.

RESULTS AND DISCUSSION

Relative infection results of the three viruses in the sweet cherry trees of the two areas studied are showed in Table 1. It can be observed that a high number of sweet cherry trees of Salamanca province (72.00%) were infected by at least one of the viruses analyzed. PDV recorded the highest affection degree (62.28% infected trees), followed by ACLSV and PNRSV (16.00 and 13.14%, respectively). “Sierra de Francia” was the region with the highest number of sweet cherry trees infected (76.31%) and in which the three viruses were found. It is probably due to the important change of vegetal material with other neighbouring areas, such as Valle del Jerte (Extremadura). PDV, ACLSV and PNRSV incidence was 61.40, 24.56 and 15.78%, respectively. “Ambrunés”, “Mollar”, “Moracha”, “Pico Negro” and “Ramón Oliva” were the local sweet cherry cultivars that showed the highest infection degree, at above 90%. At the other extreme were “Summer Charm” and “Early Belly” improved cultivars, with infection percentages lower than 45%. “Summer Charm” and “Ramón Oliva” were the unique

Madrid 2012

cultivars with negative results to PNRSV and ACLSV, respectively. On the other hand, “Arribes del Duero” region had a lower number of infected sweet cherry trees (63.93%) than “Sierra de Francia” and recorded only two of the viruses analyzed (PDV and PNRSV). Infection degree of this last virus was also inferior (8.19%). “Starking” and “Monzón” showed the highest number of infected trees (closed to 75%) and “4-70” and “Garnet” were the healthiest (50% affectation). “Monzón” and “Lamper” were the unique cultivars that showed positive results to PNRSV (36.36 and 8.33%, respectively).

Results of PDV, PNRSV and ACLSV mixed infections in sweet cherry cultivars of “Arribes del Duero” and “Sierra de Francia” (Salamanca) are showed in Table 2. It can be observed, there was no relationship between infections of the three virus studied (correlation coefficients equal or lower than 0.02). PDV and ACLSV were the viruses that most frequently appeared in combination (8.57% of cherry trees), following by PDV and PNRSV (6.85%). PDV-PNRSV-ACLSV and PNRSV-ACLSV combinations were very unlikely (1.71 and 0.57%, respectively). The unique viruses’ combination present in “Arribes del Duero” was PDV-PNRSV (36.36%-Monzón and 8.33%-Lamper). In “Sierra de Francia”, three sweet cherry trees, corresponding to “Moracha”, “Ambrunés” and “Pico Negro” local cultivars, were positive to the three viruses. In this sense, it was also observed that traditional cultivars generally showed higher infection degree than those commercial.

With respect to the symptomatology observed in the trees infected, it is important to point up that, despite to the viral diseases frequently are asymptomatic, some observations were done. Some of the main symptoms observed in the sweet cherry trees infected with theses viruses were chlorosis in the main leaf nerve and different necrotic spots (Figures 1-3).

Therefore, sweet cherry trees of the Salamanca province are widely affected by the infection of these three viruses studied, being necessary to address a sanitation program (e.g. in-vitro regeneration) in order to ensure the future of this fruit crop.

CONCLUSIONS

An important number of sweet cherry trees of the Salamanca province (72.00%) are infected by *Prune Dwarf*, *Prunus Necrotic Ringspot* and *Apple Chlorotic Leafspot* viruses. PDV is the most widespread (62.28% infected trees), followed by ACLSV (16.00%) and PNRSV (13.14%). There was no relationship between infections of the three virus studied. PDV-ACLSV and PDV-PNRSV are the most frequent viruses’ combination (8.57 and 6.85%, respectively). PDV, PNRSV and ACLSV are present in “Sierra de Francia” and only PDV and PNRSV are detected in “Arribes del Duero”. It would be interesting to address a sanitation program in order to improve the yields and quality of this fruit crop.

BIBLIOGRAPHY

Cağlayan, K., Gazel, M., Ulubaş, C. 2008. Phytosanitary status of cherry trees in the East Mediterranean Region of Turkey. *Acta Horticulturae* 795, 919-924.

Madrid 2012

- Cambra, M., Asensio, M., Gorris, M.T., Pérez, E., Camarasa, E., García, J.A., Moya, J.J., López-Abella, D., Vela, C., Sanz, A. 1994. Detection of plum pox potyvirus using monoclonal antibodies to structural and non-structural proteins. EPPO Bulletin 24 (3), 569-577.
- Clark, M.F., Adams, A.N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent as-say for the detection of plant viruses. Journal of General Virology 34, 475-483.
- Faostat. 2010. Agriculture data. Available at <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor> (accessed September 24, 2012).
- Fauquet, C.M., Mayo, M.A., Maniloff, J., Desselberger, U., Ball, L.A. 2005. Virus taxonomy. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Academic Press, London, UK.
- Howell, W.E., Mink, G.I. 1988. Natural spread of cherry rugose mosaic disease and two *Prunus* Necrotic Ringspot Virus biotypes in a Central Washington sweet cherry orchard. Plant Disease 72, 636-640.
- Mandic, B., Matić, S., Al Rwahnih, M., Jelkmann, W., Myrta, A. 2007. Viruses of sweet and sour cherry in Serbia. Journal of Plant Pathology 89, 103-108.
- Massart, S., Brostaux, Y., Barbarossa, L., César, V., Cieslinska, M., Dutrecq, O., Fonseca, F., Guillem, R., Laviña, A., Olmos, A., Steyer, S., Wetzel, T., Kummert, J., Jijakli, M.H. 2008. Inter-laboratory evaluation of a duplex RT-PCR method using crude extracts for the simultaneous detection of *Prune Dwarf Virus* and *Prunus Necrotic Ringspot Virus*. European Journal of Plant Pathology 122, 539-547.
- Milusheva, S.A., Borisova, A.Z. 2005. The incidence of *Prunus Necrotic Ringspot* and *Prune Dwarf* viruses in *Prunus* species in South Bulgaria. Biotechnology and Biotechnological Equipment 19 (2), 42-45.
- Sipahioglu, H.M., Baloglu, S. 2006. The incidence of *Prunus Necrotic Ringspot* (PNRSV) and *Apple Chlorotic Leafspot* (ACLSV) viruses on stone fruits grown in East Anatolia Region of Turkey. Acta Horticulturae 701, 469-472.
- Suchá, J., Svobodová, L. 2010. Incidence of *Prune Dwarf Virus* and *Prunus Necrotic Ring Spot Virus* in orchards of sweet cherry and sour cherry in the Czech Republic. Horticultural Science 37 (3), 118-120.

Madrid 2012

Tables**Table 1.-** PDV, PNRSV and ACLSV relative incidence in sweet cherry cultivars of “Arribes del Duero” and “Sierra de Francia” (Salamanca).

ARRIBES DEL DUERO									
Cultivar	Tested samples	Infected samples		PDV		PNRSV		ACLSV	
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
4-70	8	4	50.00	4	50.00	0	0	0	0
Del País	7	4	57.14	4	57.14	0	0	0	0
Del País Temp.	7	5	71.42	5	71.42	0	0	0	0
Garnet	8	4	50.00	4	50.00	0	0	0	0
Lamper	12	8	66.66	8	66.66	1	8.33	0	0
Monzón	11	8	72.72	8	72.72	4	36.36	0	0
Starking	8	6	75.00	6	75.00	0	0	0	0
TOTAL	61	39	63.93	39	63.93	5	8.19	0	0
SIERRA DE FRANCIA									
Cultivar	Tested samples	Infected samples		PDV		PNRSV		ACLSV	
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Ambrunés	10	10	100.00	9	90.00	4	40.00	2	20.00
Burlat	34	22	64.70	16	47.05	2	5.88	7	20.58
Early Belly	7	3	42.85	3	42.85	1	14.28	1	14.28
Jarandilla	8	6	75.00	4	50.00	1	12.50	3	37.50
Mollar	7	7	100.00	5	71.42	3	42.85	3	42.85
Moracha	7	7	100.00	6	85.71	1	14.28	3	42.85
Pico Negro	16	15	93.75	13	81.25	3	18.75	7	43.75
Ramón Oliva	9	8	88.88	7	77.77	2	22.22	0	0
Sunburst	8	6	75.00	5	62.50	1	12.50	1	12.50
Summer Charm	8	3	37.50	2	25.00	0	0	1	12.50
TOTAL	114	87	76.31	70	61.40	18	15.78	28	24.56

Madrid 2012

Table 2.- PDV, PNRSV and ACLSV mixed infections in sweet cherry cultivars of “Arribes del Duero” and “Sierra de Francia” (Salamanca).

ARRIBES DEL DUERO								
Cultivar	Mixed infections PDV-PNRSV		Mixed infections PDV-ACLSV		Mixed infections PNRSV-ACLSV		Mixed infection PDV-PNRSV-ACLSV	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
4-70	0	0	0	0	0	0	0	0
Del País	0	0	0	0	0	0	0	0
Del País Temp.	0	0	0	0	0	0	0	0
Garnet	0	0	0	0	0	0	0	0
Lamper	1	8.33	0	0	0	0	0	0
Monzón	4	36.36	0	0	0	0	0	0
Starking	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	5	8.19	0	0	0	0	0	0
SIERRA DE FRANCIA								
Cultivar	Mixed infections PDV-PNRSV		Mixed infections PDV-ACLSV		Mixed infections PNRSV-ACLSV		Mixed infection PDV-PNRSV-ACLSV	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Ambrunés	2	20.00	1	10.00	0	0	1	10.00
Burlat	0	0	3	8.82	0	0	0	0
Early Belly	1	14.28	1	14.28	0	0	0	0
Jarandilla	1	12.50	1	12.50	0	0	0	0
Mollar	2	28.57	2	28.57	0	0	0	0
Moracha	0	0	1	14.28	0	0	1	14.28
Pico Negro	0	0	5	31.25	1	6.25	1	6.25
Ramón Oliva	1	11.11	0	0	0	0	0	0
Sunburst	0	0	1	12.50	0	0	0	0
Summer Charm	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	7	6.14	15	13.15	1	0.87	3	2.63



Figure 1.- Typical chlorosis of main leaf nerve due to PDV.



Figure 2.- Usual leaf necrosis caused by PNRSV.



Figure 3.- Characteristic necrotic spots produced by ACLSV.

Madrid 2012

RESPUESTA A LA CONSERVACIÓN EN FRÍO DE TRES VARIEDADES LOCALES DE CIRUELA DEL SURESTE ESPAÑOL

¹Pretel, M.T., ²Egea, I., ²Sánchez-Bel, P., ³García-Legaz, M.F., ³López-Gómez, E., ²Martínez-Escanciano, P., ¹Martínez-Orenes, G. y ³Martínez-Madrid, MC.

¹Departamento de Biología Aplicada. Escuela Politécnica Superior. Universidad Miguel Hernández. Ctra. Beniel km 3,2. 03312-Orihuela. Alicante.

²Departamento de Biología del Estrés y Patología Vegetal. CEBASCSIC. Apartado de Correos 4195, 30100 Murcia.

³Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente. Escuela Politécnica Superior. Universidad Miguel Hernández. Ctra. Beniel km 3,2. 03312-Orihuela. Alicante.

Resumen

Se estudió la respuesta a la conservación en frío de tres variedades locales de ciruela seleccionadas de zonas rurales de la región mediterránea del sureste de España (Sanjuanera, Calasparreña y Miguera) y una comercial (Songold) que sirvió como control. Con este trabajo se pretende aportar información sobre el potencial de estos frutos para la agroindustria y, sobre todo, contemplar su posible inclusión en programas para el desarrollo económico y de mejora de las condiciones de vida en las zonas rurales. Se analizaron algunas características físico-químicas y fisiológicas de los frutos durante cuatro semanas de conservación en frío. Para determinar la posible aparición de daños por frío, todos los análisis se realizaron después de un periodo de acondicionamiento a temperatura ambiente al finalizar la exposición al frío. Los resultados obtenidos muestran que ninguna de las variedades locales presenta síntomas de daños por frío. Además en este trabajo se aporta información sobre la intensidad respiratoria (mg CO₂/kg.h), evolución del color, sólidos solubles y acidez de las tres variedades locales durante el almacenamiento. Estos resultados suponen una base para posteriores estudios sobre características nutricionales, nutraceuticas, metabólicas y antioxidantes de estos frutos. La recuperación del cultivo de estas variedades contribuiría a mantener la biodiversidad y la diversidad genética del sistema agrícola y sus alrededores.

Palabras clave: variedad local, *Prunus*, características físico-químicas, conservación en frío

INTRODUCCIÓN

La ciruela es un fruto pericarpio y su mantenimiento después de la recolección requiere el almacenamiento en refrigeración. Es interesante conocer la aptitud de las variedades locales a las bajas temperaturas, dado que las ciruelas son frutos sensibles al frío, las cuales causan desórdenes fisiológicos que se manifiestan en la pulpa como pérdida de jugosidad por harinosidad o acorchado, pardeamiento y vitrescencia. La sensibilidad de las ciruelas a las bajas temperaturas está relacionada con el cultivar (Crisosto et al., 2007; Díaz-Mula et al., 2009). En general las lesiones por frío se desencadenan a temperaturas que varían entre los 2 y los 8 °C.

La tendencia actual a la conservación de recursos genéticos ha motivado el interés por la recuperación de variedades locales, poco domesticadas y silvestres. Estas especies constituyen la base para el sostenimiento de la producción agrícola y para cualquier futura

Madrid 2012

mejora de los cultivos. La conservación y utilización de los recursos fitogenéticos contribuye al incremento de la seguridad alimentaria, a la protección del ambiente, a la conservación del conocimiento y de la diversidad cultural y a la erradicación de la pobreza. La FAO utiliza en la actualidad la denominación “Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura”, resaltando de esta forma la importancia que estos recursos tienen para el mantenimiento de la producción agrícola y para la seguridad alimentaria mundial. La carga genética de este tipo de especies es generalmente el resultado de adaptaciones vegetales al medio, de modo que pueden responder mejor a posibles alteraciones o perturbaciones de su ambiente (Egea Sánchez, 2010). En ocasiones se ha encontrado en ellas mayores niveles de compuestos beneficiosos que en las variedades comerciales (Netzel *et al.*, 2007).

Existen en el sureste español diferentes variedades locales de ciruela que, debido a la entrada en el mercado de otras variedades más productivas, han pasado a consumirse solamente a nivel local y no han sido objeto de estudios para determinar sus características, posibles usos y los beneficios que tales frutos pueden tener para la salud. (Egea Sánchez, 2010). En este trabajo se estudian algunas características físico-químicas y fisiológicas de tres especies de ciruelas poco domesticadas. Se contribuye a determinar su comportamiento en frío a temperaturas que normalmente causan alteraciones en otras variedades comerciales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon tres variedades locales de ciruelas poco domesticadas y adaptadas a sobrevivir en zonas frías recolectadas en el Noroeste de Murcia (Sanjuanera, Calasparreña y Miguera redonda amarilla) y una variedad comercial que sirvió como control (Songold) ya que es una variedad temprana muy apreciada y consumida en la zona. Las ciruelas fueron llevadas al laboratorio donde se seleccionaron aquellas libres de alteraciones o desperfectos. Se distribuyeron en bandejas homogéneas, reservando tres para el análisis de la muestra del día 0, y el resto se llevó a una cámara refrigerada a 5°C y 90% HR, hasta la realización de los muestreos periódicos.

A la salida de cámara a 5°C, los frutos se transfirieron a 20°C durante cuatro días y al cabo de este tiempo se realizaron los análisis. Cada día del muestreo se midieron los siguientes parámetros: peso, tasa respiratoria, color y control visual de daños. A continuación, los tejidos se trocearon y se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido para su posterior liofilización, y llevar a cabo el resto de los análisis en las muestras liofilizadas. La pérdida de peso se midió tanto a la salida de la cámara de 5°C como tras los 4 días a 20°C. El color de la piel de los frutos se midió por reflexión mediante los parámetros L, a y b. La experiencia se finalizó cuando los frutos ya no eran comercialmente viables. La acidez valorable y los sólidos solubles se analizaron cuando los frutos fueron recolectados y tras el periodo de almacenamiento (después de 27 días de almacenamiento a 5°C y 4 días a 20°C).

Madrid 2012

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La **pérdida de peso** se midió tanto a la salida de la cámara de 5°C (Figura 1a) como tras los 4 días a 20°C (Figura 1b). Aunque durante las dos primeras semanas la pérdida de peso fue similar en todas las variedades estudiadas, en general, a lo largo del periodo de conservación en frío a 5°C las ciruelas locales sufrieron una mayor deshidratación que la ciruela comercial Songold. La variedad Sanjuanera fue la que mayor pérdida de peso sufrió llegando a perder más del 7% después de 35 días a 5°C. Las variedades Sanjuanera y Miguera siguieron una evolución similar al control, con pérdidas de peso alrededor del 4% después de 27 días en la cámara de 5°C. Tras el periodo de reacondicionamiento de 4 días a 20°C, la pérdida de peso se incrementó en todas las variedades estudiadas, especialmente en las ciruelas locales. Al final de la experiencia, sin embargo, no hay diferencias significativas entre la variedad Sanjuanera, que fue la variedad más sensible a la deshidratación durante toda la experiencia y la variedad comercial, ya que ambas perdieron aproximadamente el 8% de su peso inicial. Estas diferencias de pérdida de peso probablemente sean debidas al tamaño de los frutos ya que la ciruela comercial es de un calibre muy superior al que presentan las variedades locales y, por tanto, la superficie traspirable por kilo es menor. El tamaño y peso de las variedades locales utilizadas ya fue caracterizado en un trabajo anterior del mismo grupo (Egea et al., 2012). El peso de la variedad Calasparreña es de 35.14 ± 2.17 g, la variedad Miguera amarilla pesa 7.56 ± 0.54 g y 6.85 ± 0.12 g la variedad Sanjuanera. En general el tamaño de las variedades locales de ciruela es menor que el de las ciruelas comerciales, cuyos pesos pueden oscilar entre 30 g para Claudia y 130 g para la variedad Son Gold (Crisosto et al., 2007) que es la variedad comercial que se ha seleccionado como control.

La **intensidad respiratoria** (Figura 2) fue diferente para las cuatro variedades estudiadas, siendo las variedades Miguera con 38.71 ± 1.34 mg CO₂/kg.h y Calasparreña con 28.07 ± 1.88 mg CO₂/kg.h, las variedades que presentaron una intensidad respiratoria más próxima a la variedad comercial. La variedad Sanjuanera con 98.03 ± 11 mg CO₂/kg.h triplica la intensidad respiratoria del resto de variedades locales y la del control. La evolución de este parámetro durante el periodo de almacenamiento siguió un patrón similar en todas las variedades estudiadas, aumentando paulatinamente. Sin embargo, en dos de las variedades locales (Sanjuanera y Calasparreña) se observó un pequeño pico respiratorio hacia el final de la experiencia. Así, la variedad Sanjuanera presentó después de 31 días de almacenamiento un máximo de 143.26 ± 6.2 mg CO₂/kg.h y la Calasparreña después de 24 días presentó un máximo de 79.93 ± 2.54 mg CO₂/kg.h. La emisión de etileno en todas las variedades fue muy baja inicialmente (inferior a 2 nL/g.h) aunque también se encontró un aumento coincidiendo con los picos de intensidad respiratoria (Egea et al., 2012). Estos resultados apuntan al posible carácter climatérico de las variedades locales estudiadas, si bien estos datos aun no son concluyentes.

Aunque el **color** de las ciruelas es propio de cada variedad, la evolución de este parámetro durante la conservación es un indicador del estado de la maduración en la mayoría de los frutos. La evolución del color durante el almacenamiento a 5°C y posterior reacondicionamiento durante 4 días a 20°C se muestra en la figura 3. La variedad Sanjuanera mostró un inicial similar a la variedad comercial Songold próximo a 65 (Figura 3a), que disminuyó durante el almacenamiento, llegando a niveles próximos a 55. La variedad Calasparreña, aunque presentó una luminosidad inferior recién recolectada (51.47 ± 0.37) alcanzó los mismos niveles que la variedad Sanjuanera y

Madrid 2012

Songold al final de la experiencia. La variedad Miguera presentó niveles más bajos de luminosidad recién recolectada, estabilizándose el CIEL* en niveles de 44 desde después de 10 días de conservación hasta el final de la experiencia.

El CIEa* osciló entre -10 y -13.6 en todas las variedades recién recolectadas. Este parámetro se mantuvo más constante en las tres variedades locales que en la variedad comercial. La variedad Sanjuanera fue la variedad local que evolucionó hacia tonalidades menos verdes, alcanzando prácticamente después de 15 días un CIEa* de -4, que se mantuvo prácticamente hasta el final de la experiencia. El CIEa* de las variedades Calasparreña y Miguera se modificó muy poco durante el almacenamiento. El CIEa* de la variedad Songold aumentó significativamente durante el almacenamiento, alcanzando valores positivos desde los primeros 15 días. Después de 31 días de almacenamiento, esta variedad presentó un CIEa* de 13.07 ± 1.4 . Aunque el color propio de la variedad Songold es de tonalidades anaranjadas, los cambios observados hacia colores rojizos podrían suponer una pérdida de calidad postcosecha (Navarro-Tárraga et al., 2007). El CIEb* se mantuvo en todas las variedades entre 20-40. El CIEb* más estable lo mostraron las variedades locales Sanjuanera (alrededor de 35) y Miguera (alrededor de 25). Tanto la variedad Calasparreña como la el control mostraron una evolución hacia tonalidades amarillas durante el almacenamiento, especialmente la variedad comercial Songold, ya que después de 15 días de almacenamiento llegó a alcanzar tonalidades con valores de CIEb* de 27. La evolución de los parámetros de color en las variedades locales estudiadas, podrían estar relacionados con mecanismos bioquímicos de defensa que, hasta ahora, se desconocen.

Aunque cada una de las variedades se recolectaron en el momento óptimo, según los consumidores habituales, la **acidez valorable** inicial fue diferente para cada una, encontrándose entre $0.66 \pm 0.01\%$ de Calasparreña y 2.13 ± 0.1 de Sanjuanera. Ambas difieren considerablemente de la acidez de la variedad comercial Songold (1.43 ± 0.02). Después del almacenamiento en frío y posterior reacondicionamiento a 20°C, en todas las variedades la acidez se reduce como consecuencia de la maduración. Sin embargo, en las variedades Calasparreña y Songold, la reducción de este parámetro es mayor. En ambas variedades la acidez se reduce alrededor del 17% respecto a la acidez inicial, aunque algunos autores consideran que los niveles de acidez que presenta inicialmente la variedad Calasparreña está en un nivel avanzado de maduración (Gimenez et al., 2005). En las variedades Sanjuanera y Miguera, sin embargo, la reducción de la acidez es inferior desde la recolección hasta el final del periodo de almacenamiento. En la variedad Sanjuanera la acidez se reduce el 11% después del periodo de almacenamiento y la variedad Miguera tan solo el 5%. Los **sólidos solubles** muestran una tendencia diferente ya que en la variedad comercial se mantienen en los niveles iniciales, mientras que en todas las variedades locales se incrementan al final del almacenamiento. La variedad Sanjuanera es la variedad local que mantiene los sólidos solubles más próximos a los iniciales, ya que después del periodo de almacenamiento solo se incrementan el 2%. Las variedades Calasparreña y Miguera incrementan sus niveles de sólidos solubles después de 27 días a 5°C y 4 días a 20°C el 11% y 8.8% respectivamente. Esto apunta a que la variedad Sanjuanera tiene un patrón de maduración más lento que el resto de variedades estudiadas ya que ya durante el periodo de almacenamiento en frío disminuye poco la acidez al tiempo que presenta un bajo incremento de sólidos solubles. Ninguna de las variedades estudiadas presenta síntomas de daños por frío en las condiciones ensayadas.

Madrid 2012

Estos resultados suponen una base para posteriores estudios nutricionales y metabólicos de las variedades locales Sanjuanera, Calasparreña y Miguera.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo realizado ha sido financiado por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, gracias a la concesión del proyecto AGL2010-16505.

REFERENCIAS

- Crisosto, G.M., Crisosto, C.H., Echeverría, G., Puy, J. 2007. Segregation of plum and pluot cultivars according to their organoleptic characteristics. *Postharvest Biol. Technol.* 44: 271–276.
- Díaz-Mula, M.H., Zapata, P.J., Guillén, F., Martínez-Romero, D, Castillo, S., Serrano, M. y Valero, D. 2009. Changes in hydrophilic and lipophilic antioxidant activity and related bioactive compounds during postharvest storage of yellow and purple plum cultivars. *Postharvest Biol. Technol.* 51: 354–363.
- Egea-Sánchez, J.M. 2010. Biodiversidad agraria, Agroecología y desarrollo rural. El caso de tierra de íberos y vegas del Segura (Murcia). Tesis doctoral. Universidad de Murcia.
- Egea, I., Sánchez-Bel, P., Pretel, M.T., López-Gómez, M.F., Romojaro, L.F. y Martínez-Madrid, M.C. 2012. Estudio de variedades de ciruelas locales del sureste español 231-235. En: *Avances en Poscosecha de frutas y hortalizas*. Eds: Recasens, I., Graell, J. y Echeverría, G. Universitat de Lleida. Lleida.
- Gimenez, A., Vignoni, L., Tapia, O., Guinle, V. Mirábile, M., Ventrera, N. y Winter, P. 2005. Poscosecha de ciruelavariedad Angeleno. Conservación frigorífica tradicional y en atmósfera modificada. *Rev. FCA UNCuyo.* 37: 75-80.
- Navarro-Tárraga, M.Ll., Valencia-Chamorro, S. y Pérez-Gago, M.B. 2007. Efecto de la temperatura de almacenamiento y la aplicación de recubrimientos comestibles en la calidad postcosecha de ciruelas cv. Sun Gold y cv Angeleno. V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones.
- Netzel, M., Netzel, G., Tian, Q., Schwartz, S. y Konczak, I. 2007. Native Australian fruits - a novel source of antioxidants for food. *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* 8: 339-346.

Madrid 2012

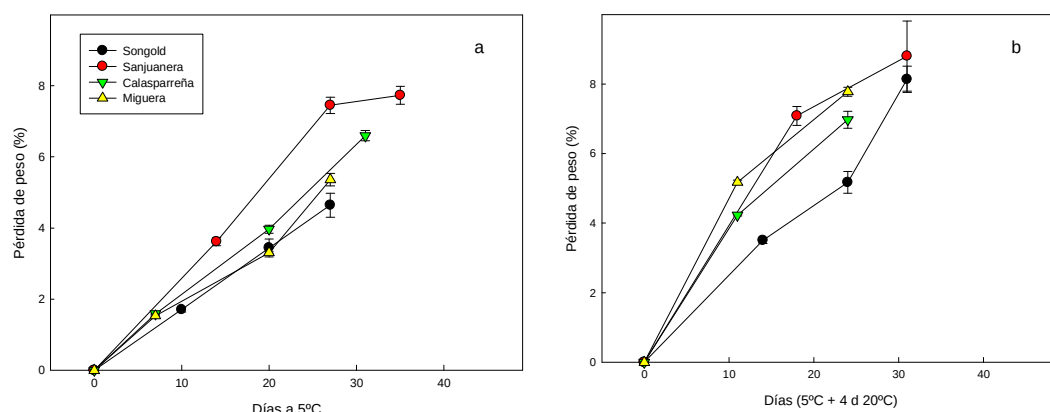
Figuras

Figura 2. Evolución de la pérdida de peso de tres variedades locales de ciruela (Sanjuanera, Calasparreña, Miguera amarilla redonda) y una variedad comercial control (Songold) tras la conservación a 5°C (2a) y tras la conservación a 5°C seguido de 4 días a 20°C (2b).

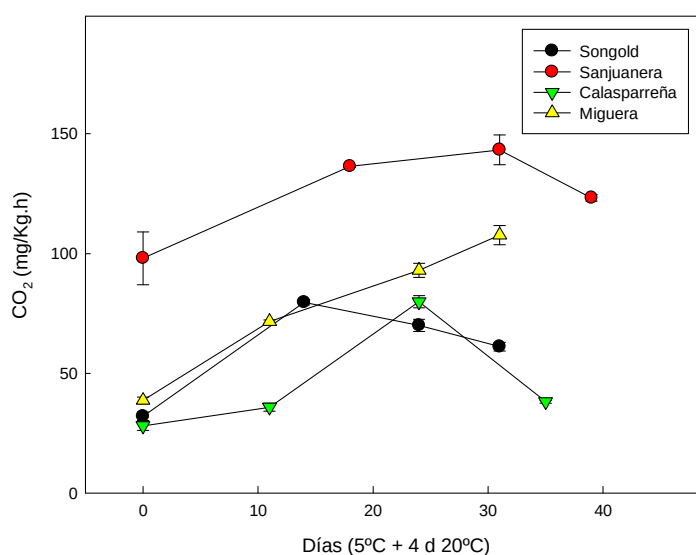


Figura 3. Evolución de la intensidad respiratoria (CO₂/kg.h) de tres variedades locales de ciruela (Sanjuanera, Calasparreña, Miguera) y una variedad comercial control (Songold) tras la conservación a 5°C seguido de 4 días a 20°C.

Madrid 2012

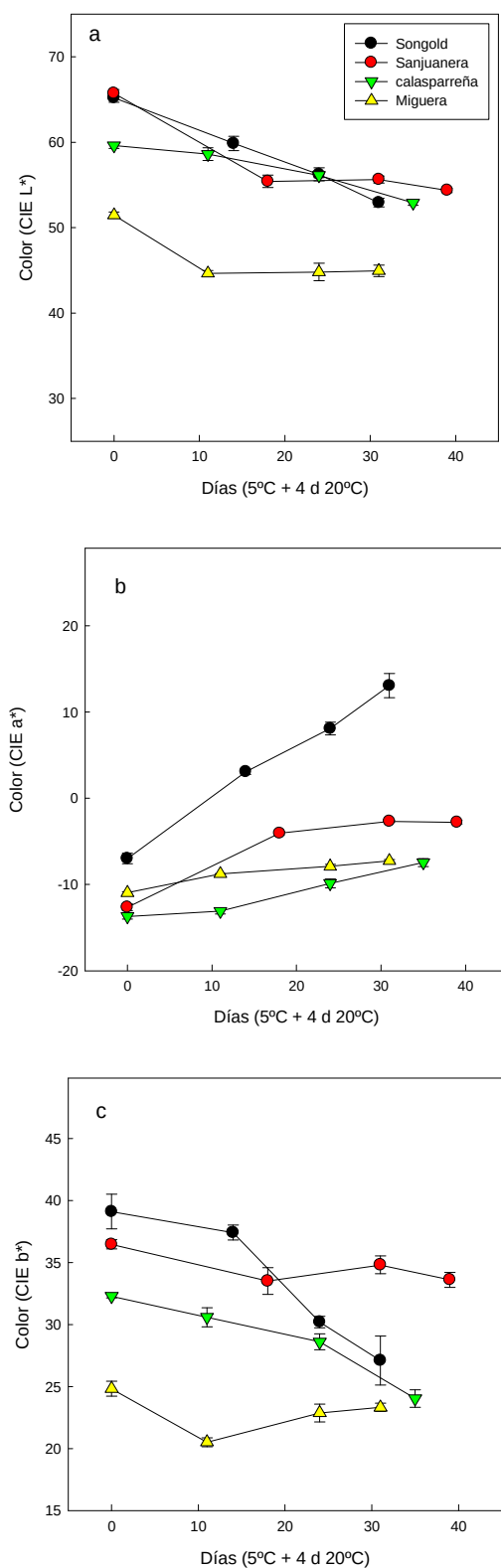


Figura 4. Evolución del CIEL*(a), CIEa*(b) y CIEb* (c) de tres variedades locales de ciruela (Sanjuanera, Calasparreña, Miguera) y una variedad comercial control (Songold) tras la conservación a 5°C seguido de 4 días a 20°C.

Madrid 2012

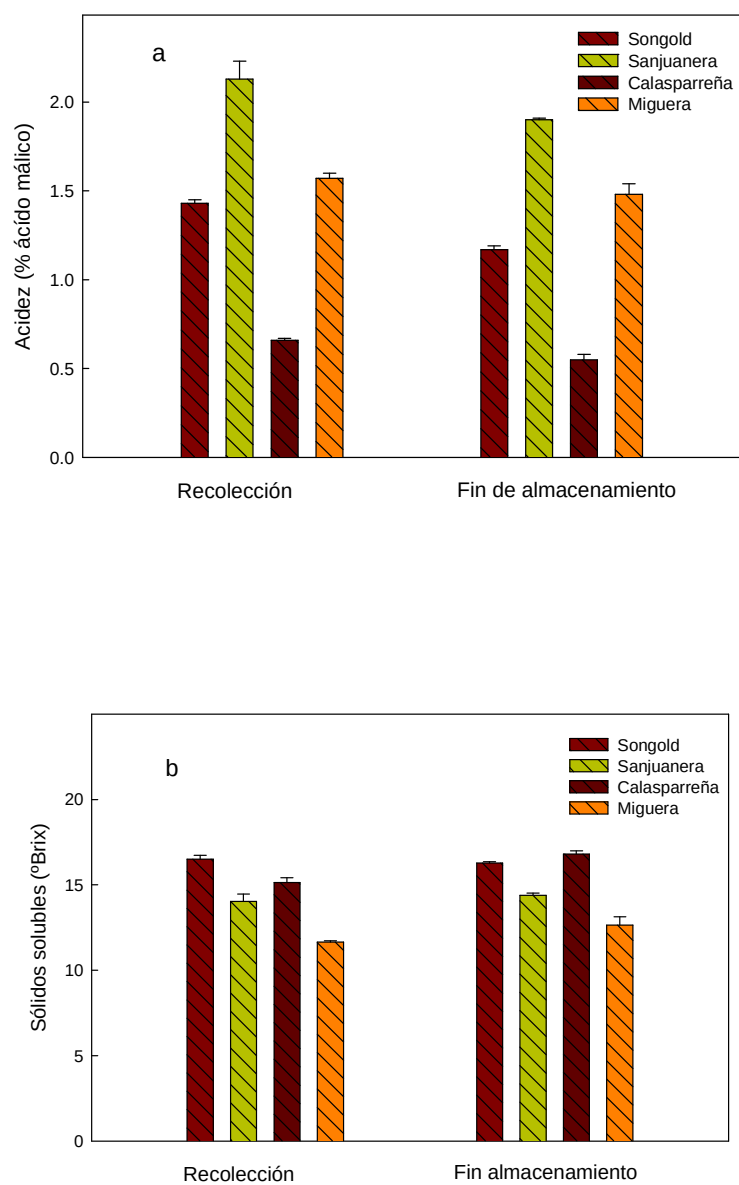


Figura 5. Cambios en la acidez valorable (a) y sólidos solubles (b) de tres variedades locales de ciruela (Sanjuanera, Calasparreña, Miguera) y una variedad comercial control (Songold) tras la conservación a 5°C seguido de 4 días a 20°C.

Madrid 201

APLICACIÓN PRECOSECHA DE GEL DE *ALOE VERA* COMO TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO EN CEREZA

Valverde, J.M.^a; Díaz-Mula, H.M.^a; Guillén, F.^a; Martínez-Romero, D.^a; Castillo, S.^a; Serrano, M.^b; Valero, D.^a; Zapata, P.J.^a

^a Department of Food Technology, EPSO, University Miguel Hernández, Ctra Beniel km 3.2, E-03312 Orihuela, Alicante, Spain

^b Department of Applied Biology, EPSO, University Miguel Hernández, Ctra Beniel km 3.2, E-03312 Orihuela, Alicante, Spain

Palabras clave: Aerobios mesófilos, hongos, respiración, maduración, calidad

Resumen

Las cerezas son frutos muy apreciados por los consumidores especialmente por sus excepcionales características organolépticas, pero además son productos altamente perecederos que tienen una vida muy corta una vez que se han recolectado. Una de las principales causas que provocan el deterioro y la pérdida de calidad en estas frutas, son la aparición de enfermedades fúngicas. El objetivo de este trabajo ha sido evaluar el efecto en dos variedades de cereza (Prime Giant y Skeena) del tratamiento precosecha con geles de Aloe vera, uno comercial (AVISA) y otro elaborado en el laboratorio. Los tratamientos fueron aplicados un día y siete días antes de la recolección. La recolección se llevó a cabo cuando la cereza había alcanzado el estado de madurez comercial y se determinaron los parámetros fisiológicos y físico-químicos relacionados con la calidad y recuentos microbiológicos. Los resultados mostraron un efecto antifúngico del Aloe vera reduciendo la contaminación microbiana de Mohos y Levaduras, al tiempo que no afectaron o mejoraron sensiblemente parámetros fisiológicos y físico-químicos relacionados con la maduración de la cereza. Con estos resultados se podría concluir que el uso del Aloe vera como herramienta precosecha podría sustituir los fungicidas químicos para prevenir la aparición de podredumbres en poscosecha.

INTRODUCCION

Durante la Poscosecha, las frutas y hortalizas se deterioran muy rápidamente, y esto es principalmente debido a los cambios que ocurren en las pérdidas de peso, color, y ablandamiento, los cuales van acompañados de la aparición de podredumbres, principalmente de las ocasionadas por hongos del género *Penicillium*, *Botrytis* y *Monilia* (Valero y Serrano, 2010). La causa que mayor pérdidas poscosecha produce son las podredumbres, y la posibilidad de que éstas se desarrollen y la severidad está directamente relacionada con el grado de contaminación inicial y el tipo de fruto. En estos momentos, la aplicación de fungicidas químicos está siendo cada vez más restrictiva, por lo que las investigaciones se orientan al uso de compuestos naturales como sustitutos en los tratamientos antifúngicos. En este sentido, el uso del Aloe vera ha mostrado unos buenos resultados antimicrobianos aplicado como tratamiento poscosecha en uva de mesa (Valverde et al., 2005; Martínez-Romero et al., 2007), cerezas (Serrano et al., 2006) y nectarinas (Navarro et al., 2011).

Las cerezas, al igual que otras frutas de hueso como el melocotón y la nectarina, son frutos muy apreciados por los consumidores por sus características organolépticas,

Madrid 201

pero a la vez también son productos altamente perecederos durante la poscosecha, lo que hace que tenga una vida útil muy corta limitando así las posibilidades de comercialización. La cereza, es uno de los primeros frutos en ser recolectados, lo que le hace ser más apreciado por los consumidores además de por su excelente calidad. Los principales componentes de calidad que más aprecian los consumidores son por un lado el color, el cual está relacionado con la maduración de la fruta y que ocurre como consecuencia de la acumulación en la piel de antocianos, que son los pigmentos responsables de la coloración de los frutos rojos, morados o azules (Serrano et al., 2005), y por otro lado el ratio entre la concentración de sólidos solubles y la acidez titulable, también conocido como índice de madurez. Estos parámetros, junto con un aspecto verde y fresco del pedúnculo, o lo que es lo mismo con ausencia de pardeamientos, determinarán la decisión de compra por parte de los consumidores (Crisosto et al., 2003). Por otro lado, la firmeza es otro factor determinante en la vida poscosecha, ya que está intrínsecamente relacionado con las pérdidas de peso y el ablandamiento de los tejidos, lo que facilita la aparición de las podredumbres, las cuales se desarrollan con mayor facilidad. La cereza está encuadrada dentro de los frutos no climatéricos y con una tasa de respiración relativamente alta, lo que condiciona en gran medida su corta vida útil.

Por tanto, el objetivo de este trabajo ha sido más allá de evaluar el carácter antimicrobiano de la aplicación del gel de *Aloe vera* como herramienta precosecha natural, ver si esta aplicación tenía también otros aspectos beneficiosos como era una reducción en el ablandamiento y la tasa de respiración, además de como afectaba al color y al índice de madurez en el momento de la recolección.

MATERIAL Y METODOS

Material vegetal y tratamientos. Para la realización de este trabajo se han utilizado dos variedades de cereza que se comercializan hoy en día, una temprana, Prime Giant, y otra de carácter más tardío, Skeena, ambas sensibles agrietado, lo que le hacen ser más susceptibles al ataque de hongos. Las cerezas fueron cultivadas en Villena, en la empresa J.M. Los Frutales, donde se realizó la aplicación de los tratamientos con gel de *Aloe vera*.

Para cada una de las variedades se procedió marcar 5 zonas diferentes (cada una de ellas de 10 árboles) para la aplicación de los tratamientos: control (se aplicó la misma cantidad de agua que a los tratamientos), gel de aloe comercial (AVISA) en una sola aplicación un día antes de la recolección (T1), y en dos aplicaciones uno y 7 días antes de la recolección (T2), y los tratamientos con el gel de Aloe vera cultivado y extraído en la universidad (UMH) en los mismos días que el anterior. En ambos casos, la aplicación del gel de Aloe vera se realizó mediante una dilución en agua destilada (1:4) y mediante una pulverización, quedando perfectamente impregnado tanto las hojas como los frutos. Los frutos control, recibieron la misma aplicación pero como se ha mencionado anteriormente, únicamente con agua. Los frutos fueron finalmente recolectados en el estado de madurez comercial y para cada uno de los tratamientos se recolectaron 30 repeticiones de 30 frutos cada una, los cuales eran homogéneos en el tamaño y color. 7

Determinaciones analíticas. La tasa de respiración fue cuantificada por cromatografía de gases utilizando un cromatógrafo Shimadzu TM 14A GCTDC, como ha sido descrito anteriormente por Valero et al. (2006). Los resultados son la media de las tres repeticiones medidas por duplicado $\pm$ ES y expresados como mg de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹. Los Sólidos Solubles Totales (SST) fueron medidos mediante refractometría con un refractómetro Atago PR.101 (Atago Co. Ltd., Japón) a 20 °C y los se expresan mediante la media en °Brix de las tres medidas por duplicado a cada repetición $\pm$ ES. En el zumo de la cereza se midió el pH y se realizó una valoración potenciométrica con NaOH 0.1 N hasta pH 8.1, los resultados se expresan como los gramos equivalentes del ácido mayoritario (málico) por 100 g de peso fresco medidos tres veces a cada repetición por duplicado $\pm$ ES.

Tras la recolección, se tomaron muestras de 10 g de cada repetición en condiciones esterilizadas para el recuento de microorganismo aerobios mesófilos y mohos y levaduras tal y como ha sido anteriormente descrito por Serrano et al. (2005).

RESULTADOS Y DISCUSION

Tasa de Respiración

Los resultados obtenidos mostraron como la aplicación del gel de *Aloe vera* como herramienta pre-cosecha produjo una disminución significativa en la tasa de respiración en el momento de la recolección (Fig. 1). En general, esta disminución fue mayor en la variedad Prime Giant que Skeena y tras dos aplicaciones que con una sola. Las mayores reducciones, pudieron verse en los frutos de la variedad Skeena tratados uno y 7 días antes de la recolección con gel de *Aloe vera* comercial mostraron las cerezas tratadas una tasa de respiración de 25.22 ± 0.33 mg de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, 12.5 mg menos que los mostrados por las cerezas control. Estas disminuciones en la tasa de respiración de los frutos mostrada en el momento de la recolección como consecuencia de la aplicación de los tratamientos, se podría asociar a una reducción del metabolismo general de las cerezas, lo cual llevaría consigo un retraso general en los procesos metabólicos de degradación por lo que la vida útil se vería aumentada (Valero y Serrano, 2010). En trabajos anteriores en los que se trabajó con *Aloe vera* pero como recubrimiento poscosecha en cereza, igualmente se observó un efecto similar disminuyendo la tasa de respiración y alargando así la vida útil del fruto (Martínez-Romero et al., 2007). Igualmente, en trabajos con el gel de aloe pero en esta ocasión igual que en nuestro trabajo en pre-cosecha, se ha mostrado una disminución en la tasa de respiración de la uva de mesa (Castillo et al., 2010).

Actividad Antimicrobiana

La capacidad del gel de *Aloe vera* como fungicida usándolo como recubrimiento comestible ha sido mostrada anteriormente a este trabajo en cereza (Martínez-Romero et al., 2007) y uva de mesa (Serrano et al., 2006). En el momento de la recolección, las dos variedades de cereza ensayadas mostraron una infección en mohos y levaduras próxima a 10⁵ UFC en los control, mientras que la aplicación de los tratamientos redujo en aproximadamente una unidad logarítmica en Skeena y en casi dos para Prime Giant. De forma general, se observa como el gel de *Aloe vera* comercial era más efectivo que el realizado en la UMH, mostrando los valores más bajos de UFC el tratamiento realizado con el gel comercial en la variedad Prime Giant. Los resultados obtenidos en los

Madrid 201

recuentos de aerobios mesófilos (Fig. 3) fueron muy similares a los anteriores, mostrándose igualmente un efecto positivo de los tratamientos de aloe que redujeron hasta en dos unidades logarítmicas la concentración de esporas en la superficie de los frutos. De esta forma, la aplicación de los tratamientos de Aloe vera gel en pre-cosecha 1 y 7 días antes de la recolección, podría llevar a una menor incidencia de la aparición de podredumbres en poscosecha, ya que como es sabido, la aparición de este tipo de enfermedades está intrínsecamente relacionada con el grado de contaminación en la superficie de la fruta.

Índice de Madurez

Dos de los parámetros descritos como importantes en la calidad de la cereza, la firmeza y el color (datos no mostrados), no presentaron diferencias significativas en el día de la recolección como consecuencia de la aplicación de los tratamientos, por lo que podemos afirmar que éstos no tienen un efecto negativo sobre estos parámetros fisiológicos. Por otro lado, el índice de madurez calculado como el cociente entre los SST y la acidez, disminuyó por la aplicación del gel de aloe comercial en la variedad Skeena, mientras que en la variedad Prime Giant este descenso fue más leve y solo se apreció con el tratamiento de dos pasadas. Estas variaciones en el índice de madurez, vienen determinadas por los cambios observados en la acidez, ya que la concentración de SST en el momento de la recolección (datos no mostrados) no mostró diferencias significativas entre los tratamientos, siendo de 16 y 18 °Brix aproximadamente para Prime Giant y Skeena, respectivamente.

Con los resultados obtenidos, podríamos concluir, que la aplicación de Aloe vera gel en pre-cosecha, podría ser una buena alternativa al uso de fungicidas químicos, ya que ha mostrado una disminución en la tasa de respiración y la contaminación microbiana en el momento de la recolección, sin afectar al resto de parámetros relacionados con la calidad, y por tanto la aceptación de los consumidores, los cuales además verían con buenos ojos la utilización de herramientas naturales como antifúngicas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido co-financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación Español (MICINN) y fondos FEDER a través del proyecto AGL2009-10857 (ALI). Los autores igualmente agradecen a la empresa Aloe vera Internacional (AVISA) por proveernos del gel de Aloe vera, y a la empresa JM Los Frutales por usar sus fincas y facilitarnos las cerezas.

BIBLIOGRAFIA

Castillo, S., Navarro, D., Zapata, P.J., Guillén, F., Valero, D., Serrano, M., Martínez-Romero, D. 2010. Antifungal efficacy of Aloe vera in vitro and its use as a preharvest treatment to maintain postharvest table grape quality. *Postharvest Biol Technol*, 57:183-188.

Crisosto, C.H., Crisosto, G.M., Metheney, P. 2003. Consumer acceptance of 'Brooks' and 'Bing' cherries is mainly dependent on fruit SSC and visual skin color. *Postharvest Biol Technol*. 28:159-167.

Madrid 201

Martínez-Romero, D., Albuquerque, N., Valverde, J.M., Guillén, F., Castillo, S., Valero, D., Serrano, M. 2007. Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by Aloe vera treatment: A new edible coating. *Postharvest Biol Technol.* 39:93-100.

Navarro, D., Díaz-Mula, H.M., Guillén, F., Zapata, P.J., Castillo, S., Serrano, M., Valero, D., Martínez-Romero, D. 2011. Reduction of nectarine decay caused by *Rhizopus stolonifer*, *Botrytis cinerea* and *Penicillium digitatum* with Aloe vera gel alone or with the addition of thymol. *Int J Food Microbiol.* 151:241-246.

Serrano, M., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Guillén, F., Valero, D. 2005. The use of natural antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in sweet cherry storage. *Innov Food Sci Emerg.* 6: 115-123.

Serrano, M., Valverde, J.M., Guillén, F., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Valero, D. 2006. Use of Aloe vera gel coating preserves the functional properties of table grapes. *J Agric Food Chemistry.* 54:3882-3886.

Valero, D., Serrano, M., 2010. *Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality.* CRC-Taylor & Francis, Boca Raton, FL, USA.

Valero, D., Valverde, J.M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., Serrano, M., 2006. The combination of modified atmosphere packaging with eugenol or thymol to maintain quality, safety and functional properties of table grapes. *Postharvest Biol. Technol.* 41:317-327.

Valverde, J.M., Valero, D., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., Serrano, M. 2005. Novel edible coating based on Aloe vera gel to maintain table grape quality and safety. *J Agric Food Chemistry.* 53:7807-7813.

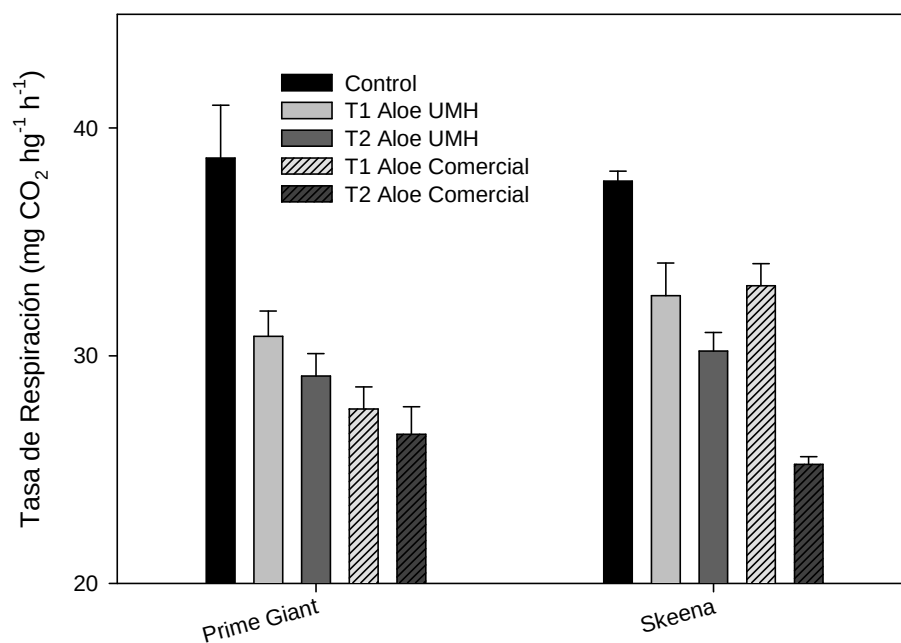


Figura 1. Tasa de Respiración de cerezas tratadas con gel de Aloe vera y sin tratar en el momento de la recolección. Los datos son la media $\pm$ ES.

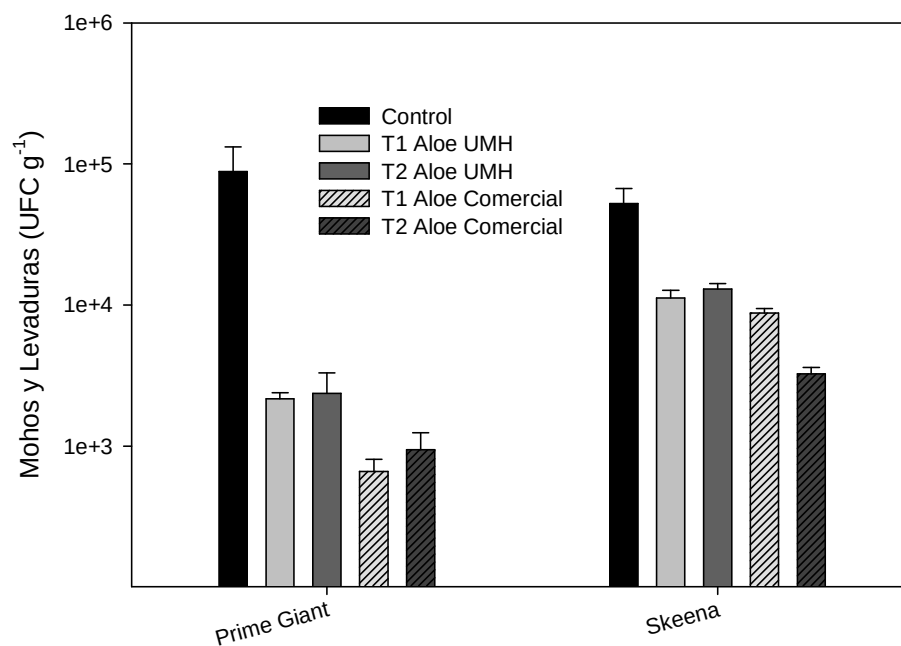


Figura 2. Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de Mohos y Levaduras en la superficie cerezas tratadas con gel de Aloe vera y sin tratar. Los resultados son la media $\pm$ ES.

Madrid 201

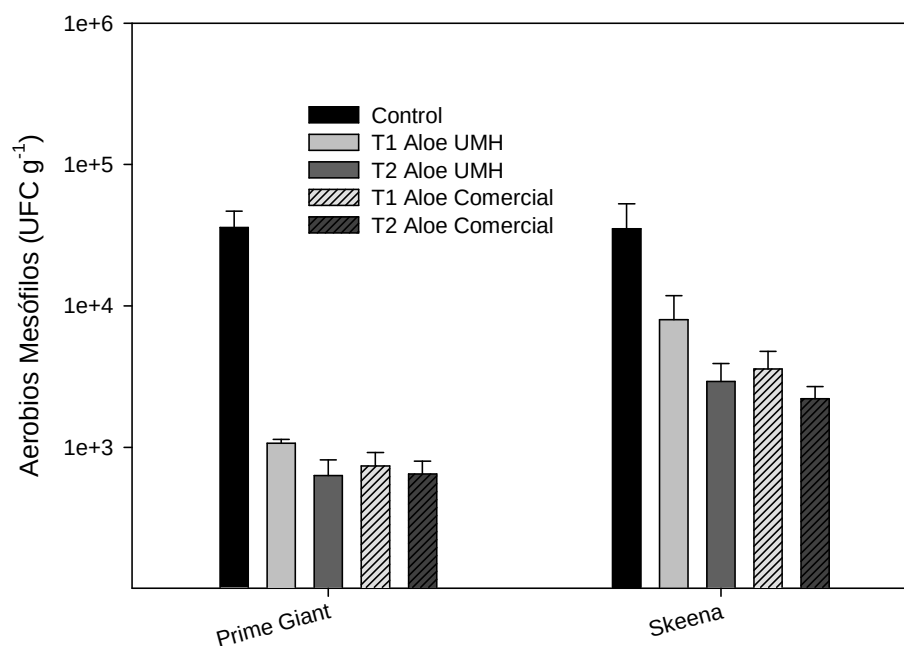


Figura 3. Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de Aerobios Mesófilos en la superficie cerezas tratadas con gel de Aloe vera y sin tratar. Los resultados son la media $\pm$ ES.

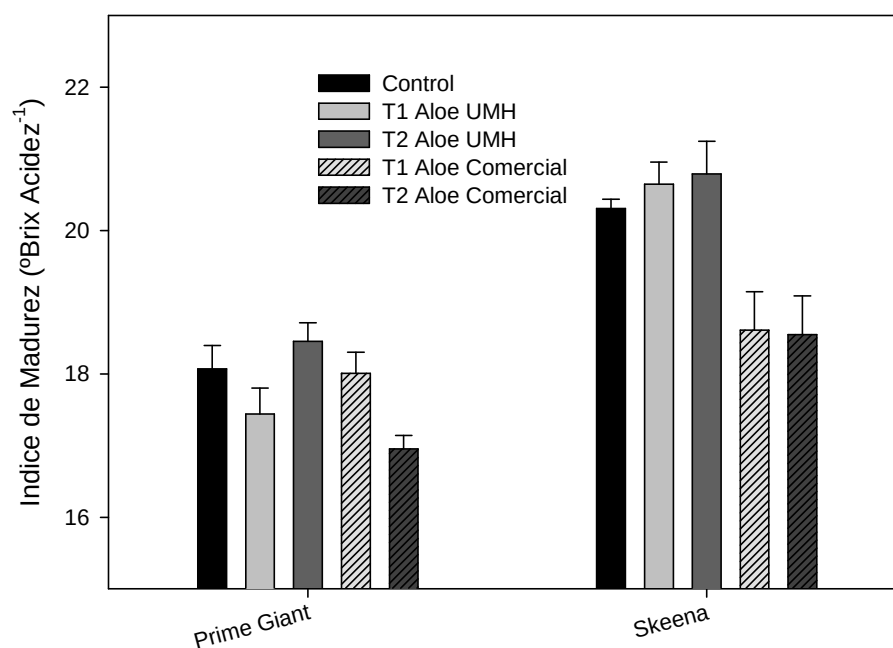


Figura 4. Índice de Madurez de cerezas tratadas con gel de Aloe vera y sin tratar en el momento de la recolección. Los datos son la media $\pm$ ES

Madrid 201

III. Health Related Issues.

III. Aspectos Relacionados con la Salud.

BIOACTIVE COMPOUNDS OF ELEVEN SWEET CHERRIES CULTIVARS

Díaz-Mula H. M.¹; Valero D.¹; Zapata P. J.¹; Valverde J. M.; Guillén F.¹; Castillo S.¹; Serrano M.² and Martínez-Romero D.¹

¹Dept. Tecnología Agroalimentaria, ²Dept. Biología Aplicada, Escuela Politécnica Superior de Orihuela (Universidad Miguel Hernández), Ctra. Beniel, km 3.2, 03312 Orihuela (Alicante), Spain; E-mail: dmromero@umh.es

Abstract

In this work some B properties such as the contents of anthocyanins, polyphenols and antioxidant activity were studied in 11 sweet cherry cultivars over the last 12 days of maturation process on tree. The results indicated that two cultivars ('Cristalina' and 'Sonata') had the highest levels in total anthocyanins ($\approx 200 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) while 'Brooks' and 'Sommerset' showed the lowest ($< 70 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$). On the other hand, 'Sonata', 'Cristalina', 'New Star' and 'Sunburst' had a total phenolic content over $90 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, while in 'Prime Giant' and 'Brooks' this content was lower than $70 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$. The total antioxidant activity was determined in both hydrophilic and lipophilic fractions, with 'Sonata' and 'Cristalina' being the cultivars with the highest values, while 'Brooks' showed the lowest one. Considering these results, some sweet cherry cultivars with very good fruit quality parameters, like 'Brooks', do not reach the maxima functional properties. We conclude that a delay of a few days in harvesting of sweet cherries would lead to achieve maximal nutritional, sensory and functional (greatest phenolics content, anthocyanins and antioxidant capacity) quality to provide both eating enjoyment and health benefits to the consumer.

Keywords: *Prunus avium* sp, antioxidants, phenols, quality

INTRODUCTION

Sweet cherry is one of the most appreciated fruit by consumer due to its precocity and excellent quality. Spain is one of the main cherry producers in Europe, with production of 102.083t in 2010, which represents 20% of the total in the European Union (FAOSTAT 2010). In sweet cherry, the ripening process is characterized by colour changes, from green to red, which can be followed by the evolution of L^* , a^* and b^* parameters and are due to accumulation and profile of anthocyanins. In fact, red colour development and size in sweet cherry are used as indicator of quality and ripening of fresh cherry (Serrano *et al.*, 2005a). Fruits and vegetables are appreciated not only by their organoleptic and nutritional properties, but also by their additional health benefits, due to their content in some bioactive compounds. Among these compounds there are vitamins A, C and E, carotenoids and phenolics, including anthocyanins, due to their antioxidant properties (Tomás-Barberán and Espín, 2001).

There are some papers about sensory, nutritive and functional properties of sweet cherry at harvest time, showing important differences among cultivars (Girard and Koop, 1998; Gonçalves *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2005; Usenik *et al.*, 2008). In addition, some parameters related to fruit quality, such as fruit weight, color and anthocyanins, firmness, and sugar and acid content have been also evaluated on different cultivars during fruit development on tree (Crisosto *et al.*, 2002; Mozetič *et al.*, 2004; Usenik *et al.*, 2005; Muskovics *et al.*, 2006). Harvesting is usually performed

Madrid 201

based on the attainment of acceptable fruit size, color and concentration of soluble solids. However apart from our previous paper, with sweet cherry cultivar '4-70' (Serrano *et al.*, 2005a), there is no available information about the changes in the content of health-promoting compounds during sweet cherry development and ripening on tree.

In this sense, the aim of this work was to analyze functional properties during the ripening on tree of 11 sweet cherry cultivars with interest in Spain. In addition, results would also serve as a basis for selection of sweet cherry cultivars with both high quality fruits and health beneficial effects, since in the last decades cultivars have been screened mainly on the basis of field growth factors and on a few fruit quality attributes such as size, color, texture and flavor.

MATERIALS AND METHODS

Plant material and experimental design:

The experiment was carried out during the 2007 spring period, in a commercial plot located at "Finca Los Frutales" (Villena, Alicante, Spain). Eleven different sweet cherry cultivars (Table 1) from 10 year old trees on 'Santa Lucía' rootstock were selected. After fruit set, three trees were selected for each cultivar and then 10 fruits were labeled around the equatorial perimeter of each tree. After 3-4 day intervals along the last three week of development process, 30 similar fruits to those labeled on tree were taken, and then immediately transferred to laboratory for further analytical determinations. The commercial harvest date (CH) for each cultivar was determined according to the Technician's company and based on size and color using the CTIFL chart. Thus, the scores at CH were 3 for 'Brooks' and 'Somerset', 5 for 'Cristalina' and 'Sonata' and 4 for the remaining cultivars. In addition, some fruits were kept 4 days further on tree to take the last sample (CH+4 days). Color fruit was measured individually in each fruit, and data are the mean $\pm$ SE (n=30). Five subsamples of six fruits were made at random, and then the edible portion was cut in small pieces to obtain five homogenous subsamples for each cultivar and sampling date. The tissue was immediately frozen in liquid N₂ and milled for total phenolics, anthocyanins and antioxidant activity determination. Fruit colour was measured individually in each fruit, and data are the mean $\pm$ SE (n=30).

Fruit colour

Three color determinations were made on each fruit at 120° interval along the equatorial perimeter using the Hunter Lab System (L*, a*, b*) in a Minolta colorimeter CR200 model (Minolta Camera Co., Osaka, Japan). In addition, a/b, Chroma index ($\text{Chroma} = (a^2 + b^2)^{1/2}$) and Hue angle ($\text{Hue} = \arctan(b/a)$) were calculated. Results were the mean $\pm$ SE.

Total anthocyanins, total phenolics and antioxidant activity

Total anthocyanins were determined according to García-Viguera *et al.* (1999) and adapted as previously reported (Serrano *et al.*, 2005). Results were expressed as mg

Madrid 201

cyanindin 3-glucoside equivalent per 100 g fresh weight, and were the mean $\pm$ SE of determinations made in duplicate in each one of the five subsamples.

Total phenolics were extracted according to Tomás-Barberán and Espín (2001) using water:methanol (2:8) containing 2mM NaF and quantified using the Folin-Ciocalteu reagent and results were expressed as mg gallic acid equivalent 100 g⁻¹ fw. Briefly, a suitable volume (25-100 μ L) of extracts was mixed with 2.5 mL of water-diluted Folin-Ciocalteu. The mixture was incubated for 2 min at room temperature and 2 mL of sodium carbonate (75 g L⁻¹) were added and shaken. Finally, mixture was incubated at 50 °C for 15 min and absorbance was measured at 760 nm.

For antioxidant activity quantification 1 g of cherry flesh was homogenate with 5 mL of 50 mM Na-phosphate buffer pH 7.5 and 3 mL of ethyl acetate, centrifuged at 15000 rpm for 15 min at 4°C and then the aqueous and organic phases were separated and used to quantify hydrophilic and lipophilic total antioxidant activity (H-TAA and L-TAA), respectively, according to Arnao *et al.* (2001). The method is based on the capacity of different fruit components to scavenge the ABTS $\bullet$ + radicals (2,20-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt), which have been previously generated by the horse radish peroxidase enzyme (HRP) and its oxidant substrate (hydrogen peroxide). A calibration curve was performed with Trolox ((R)-(+)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), as standard antioxidant for both H-TAA and L-TAA and results are expressed as mg of Trolox equivalent per 100 g fresh weight. Results were the mean $\pm$ SE of determinations made in duplicate in each one of the five subsamples.

Statistical analysis

Data for the analytical determinations were subjected to analysis of variance (ANOVA). Sources of variation were cultivar and developmental sampling dates. Mean comparisons were performed using HSD the Tukey's test to examine if differences were significant at $P < 0.05$. Linear regressions were performed between colour parameters and anthocyanin concentration, as well as among anthocyanins or phenolics and H-TAA. The regressions were carried out taking into account data for all cultivars and sampling dates (Figure 2). All analyses were performed with SPSS software package v. 12.0 for Windows (2001).

RESULTS AND DISCUSSION

The final fruit weight and the time from full blossom to harvesting were significantly different depending on cultivar (Tables 1). Thus, 'Sunburst' had faster development, with only 57 days from full blossom to harvesting, while 'Prime Giant' had the slowest with 83 days. Final fruit weight was also different among cultivars, ranging from 9 g in 'Sweetheart' to 14 g in 'Sunburst' and 'No. 57', although for all cultivars similar values were obtained in CH and CH+4 days. This means that at CH all cherry fruits had reached their final size (Table 1), which were higher as than the majority of other cultivars studied by others (Usenik *et al.*, 2008).

The parameters of skin fruit colour, L*, b* and a* showed similar evolution for all sweet cherry cultivars. These colour parameters showed constant values until fruits

had reached around the 50% of its final weight and then, L^* and b^* decreased until the end of the ripening. Contrarily, the parameter a^* increased, reaching a plateau and decreased in the last days of ripening, which means an increase in the tonality of the fruit colour (Table 2).

Total anthocyanins were determined in all cultivars, since in previous papers it has been shown that the main anthocyanins accumulation occurred in the last two weeks of cherry development (Mozetič *et al.*, 2004). Anthocyanin concentration increased in all cultivars, reaching final value between 39.55 ± 2.58 and 224.65 ± 5.57 mg cyanidin-3-glucoside per 100 g for 'Brooks' and 'Cristalina', respectively (Figure 1). Taking into account the data obtained at CH and the previous reported concentration for other sweet cherries (Gonçalves *et al.*, 2004; Mozetič *et al.*, 2004), 'Brooks', 'Sommerset', 'Prime Giant' and 'Sweetheart' could be considered as light-coloured, 'Cristalina' and 'Sonata' as dark-coloured, and the remained as medium-coloured cultivars. The predominant anthocyanins in cherry are cyanidin-3-rutinoside and cyanidin-3-glucoside, while peonidin- and pelargonidin- (3-glucoside and 3-rutinoside) have been found at very low concentrations (Gonçalves *et al.*, 2004; Mozetič *et al.*, 2004; Chaovanalikit and Wrolstad, 2004).

Taking into account data from all cultivars, a positive and linear correlation was found between anthocyanin concentration and colour index a^*/b^* ($r^2 = 0.90$). It could be considered as an easy and good ripening index for sweet cherry. In addition, the measurement of this colour index could be a good tool to predict the levels of anthocyanins in sweet cherry cultivars and the beneficial health effect of them, since anthocyanins exert antioxidant activity, as will be commented below.

Total phenolics increased in a similar way than anthocyanins, which is a sharp increase during the last sampling dates, with significant differences among cultivars (Figure 2). The highest phenolic concentration at the last sampling date was reached in 'Sonata' (191.90 ± 6.23 mg gallic acid equivalent per 100 g⁻¹) and the lowest in 'Brooks' (98.14 ± 4.64 mg 100 g⁻¹). These levels of total phenolics were at the same concentration range to those found in other cherry cultivars at commercial harvesting (Mozetič *et al.*, 2002). The major polyphenols in sweet cherry are anthocyanins followed by the hydroxycinnamic acid's derivatives neochlorogenic acid and 3'-*p*-coumaroylquinic acid (Chaovanalikit and Wrolstad, 2004). Since phenolic compounds contribute to fruit quality in terms of modifying colour, taste, aroma and flavour (Tomás-Baberán and Espín, 2001), those cultivars with higher phenolics content will have higher quality. Thus, in these sweet cherry cultivars anthocyanins are the major phenolics, according to previous reports in other cultivars (Chaovanalikit and Wrolstad, 2004).

TAA was quantified in hydrophilic (H-TAA) and lipophilic (L-TAA) extracts separately. It could be observed that both H-TAA and L-TAA increased along the ripening process for all sweet cherries. For all of them, H-TAA was higher than L-TAA (ca. 80% of TTA in 'Cristalina' and $\approx 50\%$ 'Prime Giant'), showing that the major contributors to antioxidant activity are hydrophilic compounds (Figure 3). Nevertheless, important differences were found among cultivars. Thus, at CH+4 date, the highest levels of H-TAA were found in 'Sonata' and 'Cristalina' (≈ 130 g 100 g⁻¹) and the lowest in 'Brooks' (69.67 ± 2.50 mg 100 g⁻¹), while for L-TAA 'Sonata' showed the highest level (74.66 ± 2.68 mg 100 g⁻¹) and the lowest (≈ 35 mg 100 g⁻¹) were found in 'Brooks', 'Santina', 'Cristalina' and 'NY-6479'. However, no correlations were found

between H-TAA and L-TAA in these cherry cultivars. This is the first time that antioxidant activity in both hydrophilic and lipophilic extracts has been measured during sweet cherry fruit ripening on tree and no literature is available for comparative purposes.

A high positive correlation was obtained between H-TAA and both, phenolic and anthocyanin concentrations taking into account data for all cultivars and each ripening stages (CH and CH+4) (Figure 4). Thus, in sweet cherry the main contributors to H-TAA are phenolic compounds and especially anthocyanins. The correlation between antioxidant activity and phenolic compounds has been found in several studies comparing a wide range of fruits and vegetables (Wu *et al.*, 2004). Specifically, it has been also found a good correlation between total phenols and antioxidant activity in a sweet cherry cultivar (Serrano *et al.*, 2005), although they were determined only in hydrophilic extracts. Accordingly, it has been shown that fruits with high antioxidant activity have also high anthocyanin content (Wu *et al.*, 2004). This indicates that when sweet cherry is developing the intensity in red colour, the anthocyanins could also account for their antioxidant activity and health beneficial effects (Matsumdo *et al.*, 2002).

It has been shown that sour and sweet cherry anthocyanins have the potential to directly interfere with intestinal tumor development (Kang *et al.*, 2003), a strong antidegenerative activity in neuronal cells (Kim *et al.*, 2005) and a beneficial role in the treatment of inflammatory pain (Tall *et al.*, 2004). Thus, cherry can serve as a good source of biofunctional phytochemicals in our diet, providing health beneficial effects in humans. Moreover, ascorbic acid is a hydrophilic compound with antioxidant activity which could also account for H-TAA, as has been shown in sweet cherry '4-70' (Serrano *et al.*, 2005a).

The agronomics requirements (chilling unit, flowering, fruit set, harvest date, productivity...) and fruit quality (weight, color, firmness, sweetness...) are traditionally the main aspects considered in a plant breeding program. Antioxidant activity, anthocyanins and phenolic composition were genotype dependent (Khanizadeh *et al.*, 2007) and influenced by climatic conditions (Gonçalves *et al.*, 2004). Cultivars with high functional properties (like 'Sonata') could be considered as good parentals for a sweet cherry breeding program.

BIBLIOGRAPHY

- Arnao M.B., Cano A. and Acosta M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry* 73: 239-244.
- Chaovanalikit A. and Wrolstad R.E. 2004. Total anthocyanin and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. *Journal of Food Science* 69: FCT67-FCT72.
- García-Viguera C., Zafrilla P., Romero F., Abellá P., Artés, F. and Tomás-Barberán F.A. 1999. Color stability of strawberry jam as affected by cultivar and storage temperature. *Journal of Food Science* 64: 243-247.
- Gonçalves B., Lndbo A.K., Knudse D., Silva A.P. Moutinho-Pereia J. and Rosa E. 2004. Effect of ripeness and postharvest storage on the phenolic profiles of

Madrid 201

- cherries (*Prunus avium* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 52: 523-530.
- Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R. and DeEll, J. 2007. Phenolic composition and antioxidant activity of selected apple genotypes. Journal of Food, Agriculture & Environment, 5: 61–66.
- FAO 2010. Statistical Databases; <http://faostat.fao.org>.
- Mozetič B., Trebše P., Simčič M. and Hribar J. 2004. Changes of anthocyanins and hydroxycinnamic acids affecting the skin colour during maturation of sweet cherries (*Prunus avium* L.). Lebensm. Wiss. Technol. 37: 123-128.
- Mozetič B., Trebše P. and Hribar J. 2002. Determination and quantitation of anthocyanins and hydroxycinnamic acids in different cultivars of sweet cherries (*Prunus avium* L.) from Nova Gorica Region (Slovenia). Food Technology and Biotechnology 40: 207-212.
- Serrano M., Guillén F., Martínez-Romero D., Castillo S. and Valero D. 2005. Chemical constituents and antioxidant activity of sweet cherry at different ripening stages. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53: 2741-2745.
- SPSS, VERSION 12.0 for Windows; SPSS Inc.: Chicago, IL, (2001).
- Tomás-Barberán F.A. and Espín J.C. 2001. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. Journal of the Science of Food and Agriculture 81: 853-876.
- Wu X., Beecher G.R., Holden J.M., Haytowitz D.B., Gebhardt S.E. and Prior R.L. 2004. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52: 4026-4037.

Tables

Table 1. Dates of full blossom and harvesting and total days from full blossom to reach harvest ripening stage and weight (g) at commercial harvest (CH) for sweet cherry cultivars in 2007 year. CH* Comercial Harvest.

Cultivar	Date of Full blossom	Date of CH*	Total days	Colour		Fruit weight
				CH*	CH* + 4	
Brooks	23 March	4 June	74	2,93 ± 0,04B	3,07 ± 0,03A	11.93±0.42A
Cristalina	12 April	14 June	63	5,76 ± 0,12G	7,22 ± 0,13F	10.55±0.29B
Newstar	24 March	4 June	73	3,71 ± 0,12D	4,82± 0,36D	11.75±0.33A
Nº 4 or Santina	8 April	11 June	60	3,45 ±0,12C	4,99 ± 0,14D	10.14±0.33B
Somerset or Nº 52	6 April	11 June	66	3,67 ± 0,14CD	3,62 ± 0,12B	10.90±0.20B
Nº 57 or 13N 7-19	9 April	14 June	66	3,29 ±0,14C	3,95 ± 0,16BC	13.91±0.44C
NY-6479 or Picota	3 April	14 June	69	4,64 ± 0,10E	4,85± 0,14D	9.40±0.20D
Prime Giant	20 Mach	11 June	83	3,21 ± 0,13C	3,73 ± 0,15B	13.36±0.53C
Sonata	12 April	14 June	63	4,95 ± 0,16F	5,74 ± 0,24E	12.13±0.23E
Sunburst	15 April	14 June	57	3,85 ± 0,14D	4,12 ± 0,13C	13.96±0.26C
Sweetheart	30 March	21 June	79	2,46 ± 0,11A	3,65 ± 0,14B	9.02±0.23D

Madrid 201

Figures

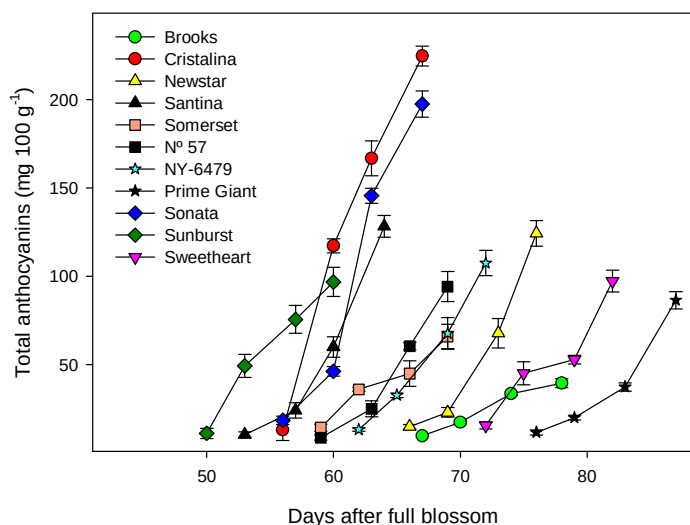


Figure 1. Evolution of total anthocyanin concentration (mg cyaniding-3-glucoside equivalent per 100 g) in the different sweet cherry cultivars along the ripening process on tree. Data are the mean $\pm$ SE ($n=5$). $LSD(P<0.05) = 8.95$.

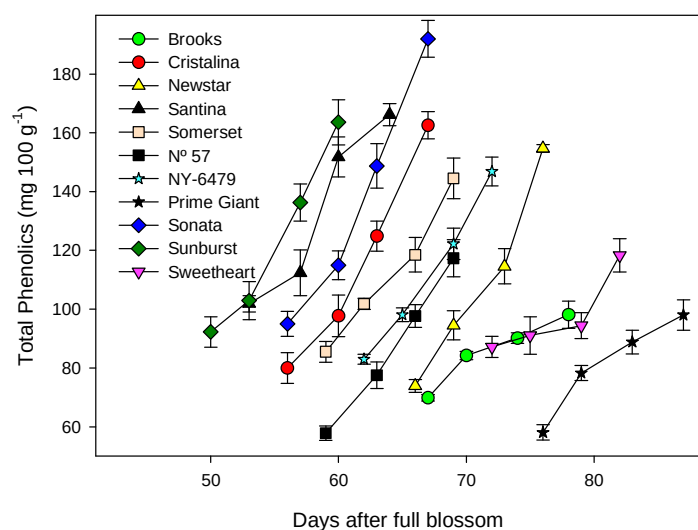


Figure 2. Evolution of total phenolic concentration (mg gallic acid equivalent per 100 g) in the different sweet cherry cultivars along the ripening process on tree. Data are the mean $\pm$ SE ($n=5$). $LSD_{(P<0.05)} = 7.42$.

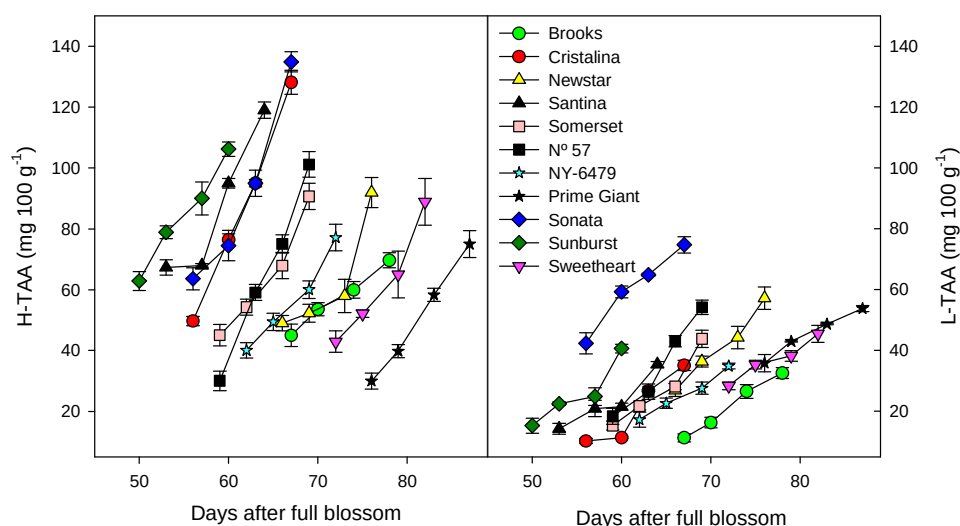


Figure 3. Hydrophilic (H-TAA) and lipiphilic (L-TAA) total antioxidant activity (mg Trolox equivalent per 100 g) evolution in the different sweet cherry cultivars along the ripening process on tree. Data are the mean $\pm$ SE ($n=5$). $LSD_{(P<0.05)} = 6.94$ for H-TAA and 4.15 for L-TAA.

Madrid 201

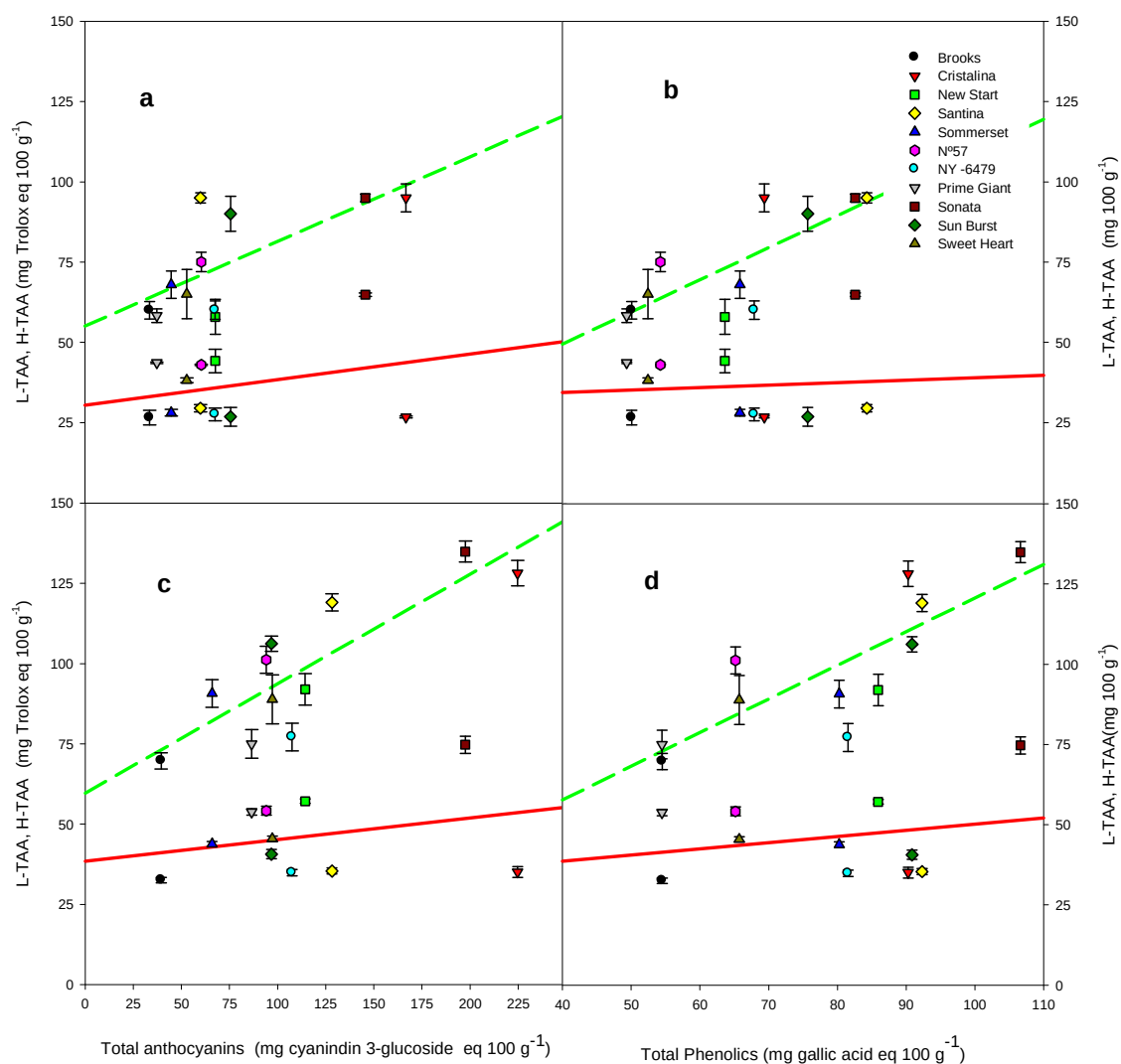


Figure 4. Correlations of Lyposoluble (-) or Hydrosoluble Antioxidant Activity with total anthocyanins concentration (a-c) and total phenolic concentration (b-d) in eleven sweet cherry cultivars in two commercial harvest stages, at commercial harvest (a-b) and four days later (c-d). Data are the mean $\pm$ SE.

Madrid 201

DEVELOPMENT OF BIOACTIVE NATURAL INGREDIENTS FROM SWEET CHERRY AND PLUM WASTES

Serra, A. T.¹, Matias A.A.^{1,2}, Nunes, S.¹, Alexandre, A.¹, Nunes, A.N.¹, Bronze, M. R.^{1,2,3}, Duarte, C.M.M.^{1,3*}

¹- Instituto de Biologia Experimental e Tecnológica, Avenida da República, Quinta-do-Marquês, Estação Agronómica Nacional, Apartado 12, 2781-901 Oeiras, Portugal ; ²- Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa, Avenida da República, Estação Agronómica Nacional, 2780-157 Oeiras, Portugal; ³- iMED, Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Av. das Forças Armadas, 1649-019 Lisboa, Portugal; *- e-mail:cduarte@itqb.unl.pt

Abstract

The market for bioactive natural ingredients is currently one of the most attractive in the world and this is essentially due to the consumer's increasing demand for health-promoting products. In recent years, special interest has been focused on recovery of these ingredients from wastes and food industry by-products since they constitute a rich and cheap source of phytochemicals.

The aim of this work was to recover bioactive molecules from cherry and plum wastes using clean extraction methodologies and evaluate their bioactivity in several chemical, enzymatic and cell-based assays.

In particular, cherries wastes derived from a traditional Portuguese variety (*Saco*) were processed by high pressure extraction with CO₂ and ethanol in an effort to obtain a promising anticancer ingredient containing perillyl alcohol. The bioactive effect was evaluated using HT29 cells and results showed that the natural extract presents higher antiproliferative effect than fresh fruits (150-fold improvement).

Anthocyanin-rich extract was also developed from *Saco* cherry wastes by applying an adsorption separation step to the hydroalcoholic extract. The powder obtained contained 15% of anthocyanins and exhibited higher antioxidant capacity than other reference compounds (ex. Vit. C). Moreover, it presented significantly anti-inflammatory properties in an inflamed intestinal epithelial cell model (Caco-2).

In case of Plums, the by-products of fruit juice industry were submitted to several conventional extractions performed with water and ethanol mixtures. The impact of a microwave pre-treatment on the yield of phytochemicals extraction was also evaluated. The final extract presented higher phenolic content and showed to have anti-obesity properties by inhibiting lipase activity. This result could be related with the presence of saponins and flavonoids, namely quercetin.

In conclusion, cherry and plum agro-food wastes can be considered as rich sources of high added-value ingredients with application in pharmaceutical, cosmetic and agro-food industries.

Keywords: Bioactive molecules, *Prunus domestica*, *Prunus avium*,

INTRODUCTION

Nowadays, it is widely recognized that a bioactive compounds present in plants, fruits and vegetables, provides health benefits and a reduction of chronic diseases risk (Dai & Mumper, 2010). In the last few years many food bioactive compounds have been commercialized in the form of pharmaceutic products (nutraceuticals), cosmetics (cosmeceuticals or nutricosmetics), or as food additives such as powders and concentrates for the enrichment of final products (functional enriched-foods)(Espín et al, 2007). In this area, major focus was applied concerning the recovery of bioactive compounds from agro-food industry by-products in an effort to find value-added applications for these wastes (Balasundram et al, 2006).

In order to obtain such valuable compounds several extraction techniques have been widely investigated. Traditional methods, such as conventional solvent extraction and Soxhlet extraction, have several drawbacks; they are time consuming, laborious, have low selectivity and/or low extraction yields. Moreover, these traditional techniques employ large amounts of toxic solvents (Luque de Castro and Garcia-Ayuso, 1998). At present extraction methods able to overcome the above-mentioned problems are being studied. Among all, high pressure extraction has becoming a very promising technology (King, 2000). Additionally, adsorption processes for the purification and fractionation of crude plant extracts may be helpful for the production of tailor-made purified phytochemical preparations (Kammerer and Carle, 2007).

Cherries and plums are interesting natural sources of phytochemicals, including polyphenols and anthocyanins (Mubarak et al, 2012; Serra et al, 2011). Additionally, cherry contains perillyl alcohol (Kris-Etherton et al., 2002), a hydroxylated monocyclic monoterpene, which has been shown to have a potential use as an anticancer drug by stimulating different types of tumour to apoptosis, inhibiting their proliferation or overcoming their resistance to chemo-/radiotherapy (Elegbede et al., 2003; Yuri et al., 2004; Samaila et al., 2004). Perillyl alcohol has also been investigated by the National Cancer Institute phase I, II or III chemoprevention trials. Plums (*Prunus domestica*) are also reported as an excellent source of phytochemicals, particularly flavonoids and phenolic acids (Kim et al, 2003), and contains higher antioxidant activity than many other fruits (e.g. apple) (Usenik et al, 2012).

Within this context, the aim of this work was to develop new high-value bioactive products from cherry and plum wastes using clean extraction/separation technologies

MATERIALS AND METHODS

Materials. Disodium fluorescein (FL) was obtained from TCI Europe (Antwerp, Belgium) and FeSO₄ was from Merck (Darmstadt, Germany). All cell culture media and supplements were obtained from Invitrogen (Gibco; Invitrogen, Corporation, Paisley, UK). Employed standars for HPLC analysis were all from Extrasynthèse (Genay, France). Streptavidin-HRP (Horseradish Peroxydase) was obtained from Millipore (Massachusetts, USA) and anti-rabbit IgG antibodies biotin conjugated, Ultra pure Tween-20, rabbit anti-IL-8 antibody were obtained from Rockland (Gilbertsville, PA, USA). TNF- α and IL-1 β were from Santa Cruz Biotechnology (Heidelberg, Germany).

Madrid 201

All other reagents and chemicals were obtained from Sigma-Aldrich (St. Quentin Fallavier, France).

Cherry wastes. Sweet cherry culls from Saco variety derived from Cova da Beira, Portugal, Raw material used in all extractions was obtained from all fruit and stalks Firstly, raw material was crushed in a knife mill (UFESA, Lisbon, Portugal) followed by dehydration in a freeze drier. After 72h the raw material was milled in a grinder (Braun, KSM 2, Kronberg, Germany) and stored at -18°C until the day of the extraction experiments.

Plums by-product. *Prunus domestica* by-products were obtained from a fruit juice industry and it consisted on peels and seeds.

High pressure extraction of cherries. High pressure extraction was performed on Saco cherry culls as described by Serra et al. (2010) using a pre-treatment with supercritical CO₂ followed by an extraction step with CO₂:EtOH (90:10 v/v).

Conventional solvent extraction + Adsorption process of cherries. Dried cherry culls were extracted using EtOH:H₂O (50%v/v) mixture as described by Serra, A.T (2010). The hydroalcoholic extract was further submitted to a purification step using food grade macroporous resin Amberlite® XAD-16.

Conventional extractions and microwave treatment of plum by-products. Conventional extractions with EtOH, H₂O, EtOH:H₂O 50:50 (v:v) and MetOH 80% were performed to dried residues (solvent ratio 1:10). For microwave pre-treatment, fresh plums by-products were homogenised using a grinder (UFESA, LC5005, China) and exposed to 1.000 Watt microwave radiation during 1 minute. Then, extractions were performed with a EtOH:H₂O 50:50 (v:v) at 1:4 ratio (mass:volume) solvent, during 4 hours. All final extracts were dried and stored at -20°C prior analysis.

Total phenolic content. The total concentration of phenolic compounds was determined according to the modified Folin Ciocalteu colorimetric method (Singleton and Rossi, 1965). Results were expressed in mg as gallic acid equivalents (GAE).

HPLC analysis. HPLC analysis of phenolic compounds was carried out using a Surveyor equipment from Thermo Finnigan with a diode array detector (Thermo Finnigan—Surveyor, San Jose, CA, USA). The data acquisition systems were the Chromquest version 4.0 (Thermo Finnigan—Surveyor, San Jose, CA, USA). Identification of compounds was done by comparing retention time, spectra and spiking samples with known amounts of pure standards, whenever available.

ORAC assay. The assay was carried out following the method of Huang et al. (2002), adapted for microplate fluorescent reader (FL800 Bio-Tek Instruments, Winooski, VT, USA) (Serra et al, 2011). ORAC results were expressed as micromoles of trolox equivalents antioxidant capacity per gram of dry weight (µmol TEAC/g dw).

HORAC assay. The HORAC assay was adapted from Ou et al (2002) and modified for the FL800 microplate fluorescence reader as described by Serra et al. (2011). Data were expressed as micromoles of caffeic acid equivalents (CAE).

HOSC assay. The HOSC assay was adapted from Moore et al. (2006). Data were expressed as micromoles of trolox equivalents (TEAC).

Cellular antioxidant activity. The cellular antioxidant capacity was evaluated on HepG2 and Caco2 cells using DCFH-DA assay and AAPH and H₂O₂ as chemical stressors (Wolfe et al., 2008). Data were expressed as μmol of quercetin equivalents (QE).

Bioavailability assays. For transport studies, Caco2 cells were seeded in 12 mm i.d. Transwell® inserts with 12-well plates. Cells were allowed to grow and differentiate to confluent monolayers for 20-24 days post seeding and transepithelial electrical resistance (TEER) was monitored using EVOM voltmeter (WPI, Berlin, Germany). Apparent permeability coefficients (Papp) of extracts were calculated for 1 h assay.

Antiproliferative activity and cell cycle analysis. Antiproliferative cell assays were performed in human colon cancer cells HT29 (ATCC, USA) as described previously (Serra et al., 2011). Cell cycle analysis was evaluated by Flow cytometry.

Anti-inflammatory activity. Anti-inflammatory activity was performed in Caco-2 cells stimulated by an inflammatory stimuli (50ng/mL TNF- α , 25ng/mL IL-1 β and 10 $\mu\text{g/mL}$ LPS) according to Nunes, S. (2011). NO determination was performed using modified Griess reagent IL-8 quantification by an ELISA assay.

Pancreatic lipase inhibition assay. Pancreatic lipase activity was measured according to Sugiyama et al. (2007). The inhibitory activity was expressed as a percentage of inhibition in relation to the control.

RESULTS AND DISCUSSION

In this work, sweet cherries and plum wastes were used as raw material for the development of high value products. High pressure extraction, adsorption separation process and microwave based extraction were selected to efficiently isolate phytochemical rich fractions with i) anticancer activity, ii) antioxidant and anti-inflammatory effect, and iii) anti-obesity properties.

Aiming at obtaining a POH rich fraction, a fractionated high pressure protocol was applied to cherries culls, which consisted on a pre-treatment with supercritical CO₂ followed by a second extraction step with CO₂:EtOH (90:10 v/v) mixture (Serra et al., 2010). The resulting extract contained POH (detected by TLC) and showed to inhibit the proliferation of human colon cancer cell line (HT29) in a time and dose dependent manner (Fig.1). The concentration required to reduce 50% of HT29 viability after 96h was also determined (0.20 mg/mL) and cherry extract showed to be 150 times more effective than fresh fruit (ED50 value- 5.4 mg/mL, Serra et al., 2011).

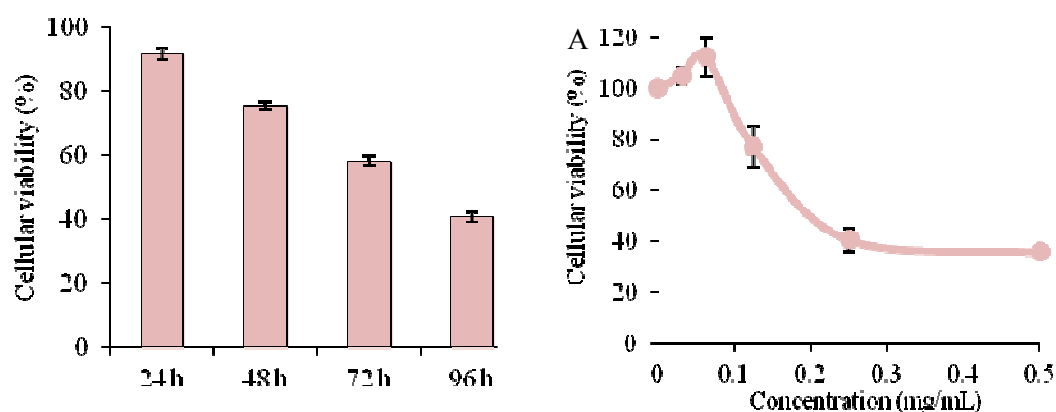


Figure 1. Antiproliferative of cherry extract obtained by fractionated high pressure extraction on HT29 cells. A- Time dependent effect (extract concentration- 0.5mg/mL); B- Dose dependent effect (proliferation time- 96h).

In order to better understand the antiproliferative effect of cherry extract, flow cytometry was performed to analyse the induction of cell cycle arrest. In this study, HT29 cells were treated with cherry extract (0.5mg/mL) and results were compared with doxorubicin, a common chemotherapeutic drug. Data obtained showed that, when cells were treated with cherry extract, there was an increase on G1 phase (cell division phase) population (Fig.2). This effect could be related with the presence of POH, that is already reported to induced G1 arrest in other human cancer cell lines (Yuri et al., 2004). On contrary, doxorubicin induced cell cycle arrest in G2/M phase (cell division phase) which suggests that cherry can be used in combination with this chemotherapeutic drug to enhance the inhibition of tumour survival.

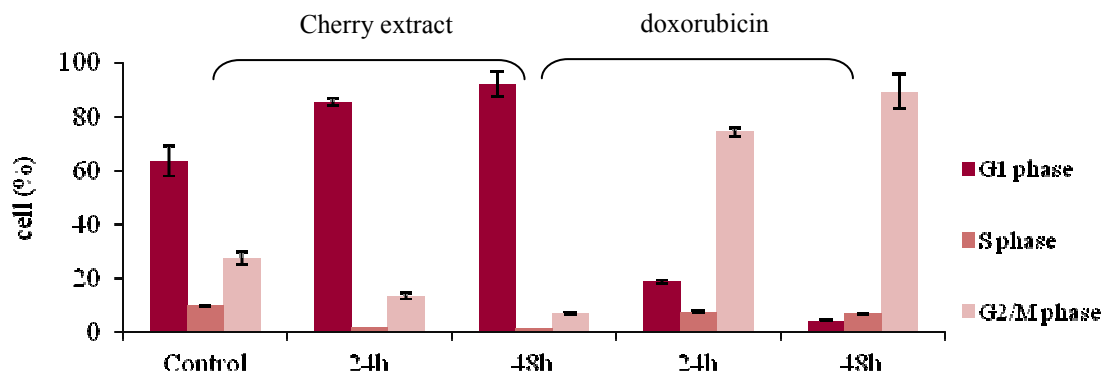


Figure 2. HT29 Cell cycle arrest induced by cherry extract (0.5mg/mL) and doxorubicin (125nM).

In this study, Saco cherry culls were also used to develop a polyphenol-rich extract (PRE) using an adsorption process with macroporous resin (Amberlite XAD 16). Cherry's PRE presented about 50% of polyphenols (457 ± 14 mg GAE/g dw), and the main compounds identified were anthocyanins such as cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-rutinoside and peonidin-3-glucoside.

In order to access the antioxidant effectiveness of cherry PRE, several cell-free and cell-based assays were performed: ORAC, HORAC and CAA. Results are presented in table 1 and demonstrated that cherry PRE had similar HORAC and ORAC values. In particular, it is important to highlight that ORAC value of extract was higher than synthetic vitamin C (3220 ± 312 $\mu\text{molTEAC/g}$). Cellular antioxidant activity was evaluated in human Caco2 and HepG2 cell lines and results showed that the highest values were achieved for HepG2 incubated with H_2O_2 (Table 1). Additionally, when compared with the results of Wolfe et al (2008) using HepG2 cells and AAPH as stressor, cherry PRE showed higher cellular antioxidant quality (measure of the cellular antioxidant activity provided by 100 μmol of phenolics) than fresh fruits (Cherry PRE- 7.3 ± 1.0 $\mu\text{molQE}/100\mu\text{mol}$ of phenolics; cherry- 3.1 ± 0.5 $\mu\text{mol QE}/100\mu\text{mol}$ of phenolics).

Table 3.7. Antioxidant values of cherry PRE.

Assay	Antioxidant value
ORAC ($\mu\text{mol TEAC/g}$)	7611 ± 213
HORAC ($\mu\text{mol CAE/g}$)	6874 ± 587
CAA (Caco2, AAPH) ($\mu\text{molQE/g}$)	252 ± 19
CAA (Caco2, H_2O_2) ($\mu\text{molQE/g}$)	157 ± 9
CAA (HepG2, AAPH) ($\mu\text{molQE/g}$)	195 ± 26

CAA (HepG2, H₂O₂)
 (μmolQE/g) 510 ± 103

To evaluate if cherry PRE can cross the intestinal barrier, bioavailability assays were performed using a Caco2 cell model. It has been reported that these cells can undergo spontaneous differentiation in culture conditions and exhibit the characteristics of mature enterocytes (Hidalgo *et al.*, 1989). Results obtained demonstrated that polyphenols of cherry PRE were transported through the Caco 2 cell monolayers (Fig. 3). In the first 15 min of incubation, 6.6% of polyphenols of extract reached the basolateral side. It should be noted that, in all assays, the integrity of cell monolayer was confirmed by transepithelial electrical resistance (TEER) measurements. Moreover, it is important to highlight that when compared with quercetin, cherry PRE exhibited higher apparent permeability (Papp) (cherry PRE- 10.8×10^{-6} cm/s; Quercetin- 0.5×10^{-6} cm/s).

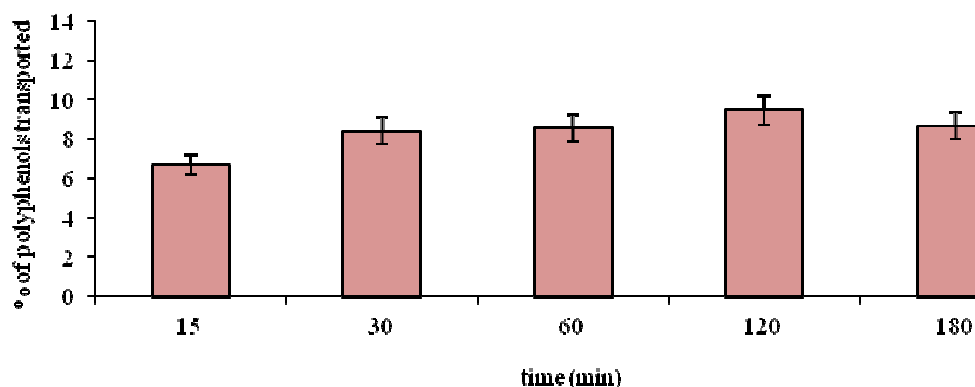
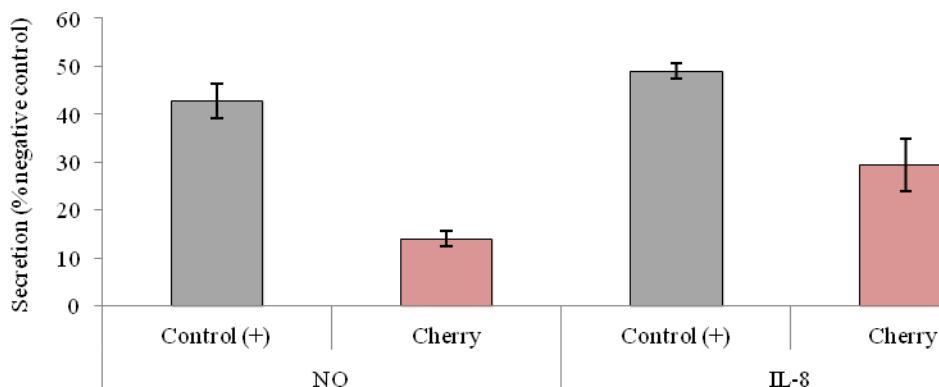


Figure 3. Transport of polyphenols from cherry PRE through the Caco2 cell monolayers.

The anti-inflammatory activity of cherry extract was evaluated at an intestinal level using Caco-2 cells stimulated by an inflammatory cocktail. Nitric oxide production and IL-8 secretion was measured and results demonstrated that cherry PRE was able to significantly decrease the expression these pro-inflammatory mediators (Fig.4).



Madrid 201

Figure 4. Anti-inflammatory activity of cherry extract in stimulated Caco-2 cells: Measurement of IL-8 and NO secretion expressed as percentage of negative control. All data are means $\pm$ SEM of triplicates.

In case of plums, the by-products of fruit juice industry were firstly characterized in terms of total polyphenols using a methanolic (80%) extraction. The results obtained showed that plums wastes contained 21.6 ± 2.7 mg GAE/g fw (79.1 ± 9.9 mg GAE/g dw) of polyphenols, which is higher than the values already reported for fresh fruits (1-4mg GAE/g fw; 7-27mg GAE/g dw) (Kim *et al.*, 2003; Rop *et al.*, 2009).

In order to develop natural ingredients from plums wastes, conventional extractions with biocompatible solvents, namely water and ethanol were performed. Results showed that the mixture EtOH:H₂O 50:50 (v/v) was more effective in extracting phenolic compounds (24.5 ± 1.4 mg GAE/g fresh residue) than EtOH or H₂O alone (<5.0 mg GAE/g fresh residue). Additionally, the resulting extract was the richest in polyphenols content and antioxidant effect (Fig. 5).

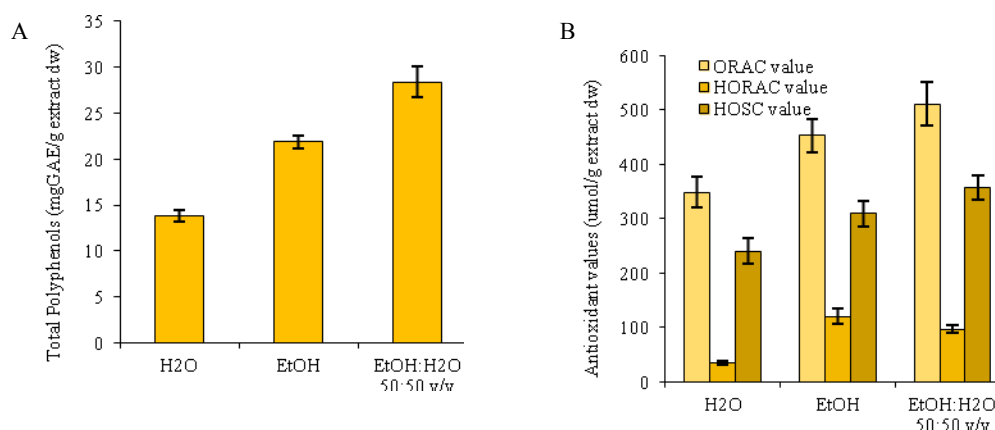


Figure 5. Characterization of plum extracts obtained by conventional extraction processes. A- Total phenolic content; B- Antioxidant activity.

Plum wastes were also submitted to a microwave pre-treatment (1000watts, 1min) prior to the conventional extraction with EtOH:H₂O 50:50 (v/v) and the final product showed to be richer in polyphenols (34.0 ± 1.1 mg GAE/g extract dw). This result indicates that a microwave pre-treatment allowed to increase the phenolic content of final extracts, probably by promoting the release of bounded compounds from the natural matrix. The final extract was also evaluated for its anti-obesity properties, by analysing the ability to inhibit pancreatic lipase activity. As shown in figure 6, plum extract inhibited lipase activity in a dose dependent-manner. The concentration required to inhibit 50% of enzyme activity was found to be 0.44 mg/g dw.

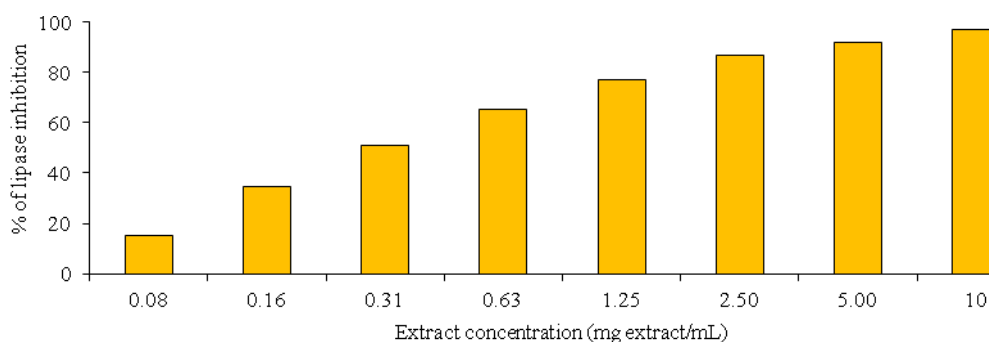


Figure 6. Pancreatic lipase inhibition capacity of plum extract.

CONCLUSION

Cherry and plum agro-food wastes can be considered as rich sources of high added-value ingredients with application in pharmaceutical, cosmetic and agro-food industries.

REFERENCES

- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.* 99, 191-203.
- Dai, J., Mumper, R.J. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules.* 15,7313-7352
- Elegbede, J.A., Flores, R., Wang, R. C. 2003. Perillyl alcohol and perillaldehyde induced cell cycle arrest and cell death in BroTo and A549 cells cultured in vitro. *Life Sci* 73, 2831-2840.
- Espín, J.C., García-Conesa, M.T., Tomás-Barberán, F.A. 2007. Nutraceuticals: facts and fiction. *Phytochem.* 68, 2986-3008
- Hidalgo, I.J., Raub, T.J., Borchardt, R.T. 1989. Characterization of the human colon carcinoma cell line (Caco-2) as a model system for intestinal epithelial permeability. *Gastroenterology.* 96, 736-749
- Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., Prior, R. L. 2002. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *J Agric Food Chem* 50, 4437-4444
- Kammerer, D.R., Carle, R. 2007. Current and emerging methods for the recovery, purification and fractionation of polyphenols from fruit and vegetables by-products. *Fruit Processing.* 17, 89-94.
- Kim, D., Jeong, S.W., Lee, C.Y. 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chem.* 81, 321-326.

Madrid 201

- King, J. W. 2000. Advances in critical fluid technology for food processing. *Food Sci. Technol. Today* 14, 186–191.
- Kris-Etherton, P.M., Hecker, K.D., Bonanome, A., Coval, S.M., Binkoski, A.E., Hilpert, K.F., Griel, A.E., Etherton, T.D. 2002. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am. J. Med.* 113 Suppl 9B, 71S-88S.
- Luque de Castro, M.D., Garcia-Ayuso, L.E. 1998. Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future. *Anal Chim Acta.* 369, 1-10.
- Moore, J., Jin, J.J., Yu, L.L. 2006. Novel fluorometric assay for hydroxyl radical scavenging capacity (HOSC) estimation. *J Agric Food Chem.* 54, 617-626
- Mubarak, A., Swinny, E.E., Ching, S.Y.L., Jacob, S.R., Lacey, K., Hodgson, J.M., Croft, K.D., Considine, M.J. 2012. Polyphenols composition of plum selections in relation to antioxidant capacity. *J Agric. Food Chem.* 60, 10256-10262.
- Nunes, S. 2011. Modulation of pro-inflammatory mediators by *Opuntia ficus-indica* and *Prunus avium* bioproducts using an in vitro cell-based model of intestinal inflammation. Master thesis
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J., Deemer, E., Prior, R., Huang, D. 2002. Novel fluorometric assay for hydroxyl radical prevention capacity using fluorescein as the probe. *J. Agric. Food Chem.* 50, 2772-2777.
- Rop, O., Jurikova, T., Mlcek, J., Kramarova, D., Sengee, Z. 2009. Antioxidant activity and selected nutritional values of plums (*Prunus domestica* L.) typical of the White Carpathian Mountains. *Scientia Hort.* 122, 545-549.
- Samaila, D., Toy, B. J., Wang, R. C., Elegbede, J. A. 2004. Monoterpenes enhanced the sensitivity of head and neck cancer cells to radiation treatment in vitro. *Anticancer Res.* 24, 3089-3095
- Serra, A.T. 2010. Valorization of Traditional Portuguese Apples and Cherries - Biochemical characterization and development of functional ingredients. Ph.D Thesis
- Serra, A.T., Duarte, R.O., Bronze, M. R., Duarte, C.M.M. 2011. Identification of bioactive response in traditional cherries from Portugal. *Food Chemistry*: 125, 318-325.
- Serra, A.T., Seabra, I.J., Braga, M.E.M, Bronze, M.R., Sousa, H.C., Duarte, C.M.M. 2010. Processing cherries (*Prunus avium*) using supercritical fluid technology. Part 1- Recovery of extract fractions rich in bioactive compounds, *J. Supercrit. Fluids.* 55, 184-191.
- Singleton, V.L, Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144-158.
- Sugiyama, H., Akazome, Y., Shoji, T., Yamaguchi, A., Yasue, M., Kanda, T., And Ohtake, Y. 2007. Oligomeric Procyanidins in Apple Polyphenol Are Main Active Components for Inhibition of Pancreatic Lipase and Triglyceride Absorption. *J. Agric. Food Chem.* 55, 4604-4609

Madrid 201

- Usenik, V., Stampar, F., Kastelec, D. 2012. Phytochemicals in fruits of two *Prunus domestica* L. plum cultivars during ripening. *J. Sc. Food Agric.* In press
- Wolfe, K. L., Kang, X., He, X., Dong, M., Zhang, Q., Liu, R. H. 2008. Cellular antioxidant activity of common fruits. *J. Agric. Food Chem.* 56, 8418-8426.
- Yuri, T., Danbara, N., Tsujita-Kyutoku, M., Kiyozuka, Y., Senzaki, H., Shikata, N., Kanzaki, H. Tsubura, A. 2004. Perillyl alcohol inhibits human breast cancer cell growth in vitro and in vivo. *Breast Cancer Res Treat.* 84, 251-260.

Madrid 201

EVOLUTION OF FIRMNESS AND FUNCTIONAL COMPOUNDS DURING POSTHARVEST STORAGE OF JAPANESE PLUMS

Velardo, B. M.¹; Miguel-Pintado, C.¹; Bernalte, M. J. G.²; Ayuso, M. C. Y.²; Lozano, M. R.¹ and González-Gómez, D.¹.

¹ Agri-Food Technological Institute of Extremadura (INTAEX), Av. Adolfo Suárez, s/n, Aptdo. 20107, 06071, Badajoz, Spain.

² Agricultural Engineering School, University of Extremadura, Av. Adolfo Suárez, s/n, 06007, Badajoz, Spain.

Abstract

This work studies the evolution of firmness and functional compounds of four Japanese plum cultivars stored at different temperature. Flesh firmness, total phenolics, anthocyanin pigments, total carotenoid content and the total antioxidant activity were evaluated in all fruits at harvest and after storage at 0 or 5 °C plus shelf-life. Fruits harvested at commercial maturity were stored at least 42 days at 0 or 5 °C and this period increased depending on the storage potential of each cultivar. After storage, fruit was kept for 3-6 days at 20 °C, according to the cultivar. Storage at 0 °C maintained flesh firmness of all the studied plum cultivars in values “ready to buy”. In contrast, all cultivars exhibited excessive pulp firmness loss during storage at 5 °C. Total phenolics and carotenoid content were correlated with cultivar. However, a significant improvement in total anthocyanins of red and dark-purple plum cultivars was observed in fruit stored at 5 °C. Total antioxidant capacity was also significantly higher in fruit stored under these conditions. Concluding, the cultivars ‘Black Diamond’, ‘Fortune’, ‘Larry Ann’ and ‘Angeleno’ had commercial firmness at the end of storage at 0 °C and their functional compounds concentration were higher than at harvest time. On the other hand, the long postharvest storage at 5 °C reduced pulp firmness of the fruits and had a negative influence on their fresh consumption; however, the amount of functional compounds found in the fruit stored under these conditions (5 °C) was significantly higher. For this reason, these fruit could be suitable to elaborate manufactured products with high functional value.

Keywords: firmness, phenolics, anthocyanins, carotenoids, antioxidant activity

INTRODUCTION

Plums are climacteric stone fruits, very perishable, with a rapid decay after harvest, due to the loss of firmness and the occurrence of chilling injuries, even when they are stored under the optimum conditions of temperature and humidity for long periods (Crisosto *et al.*, 2004). Good postharvest practices (0 ± 0.5 °C and 90-95 % relative humidity) ensure an appropriate marketability of 2-6 weeks. This period will be influenced by the cultivar and grade of fruit maturity at harvest. Different postharvest practices can be used in order to keep the physicochemical characteristics of the stored fruit in the same ranges as they were harvested. Besides the sensory quality, consumers are nowadays concerned about health-promoting properties associated with the regular consumption of certain type of fruit and vegetables (Kris-Etherton *et al.*, 2002). In this sense, the scientific community is focused on the selection of fruit cultivars with high concentration of functional compounds, the optimization of the postharvest technologies

in which these compounds are not degraded and the isolation of these functional compounds in order to manufacture functional products. Taking into account the above mentioned reasons, plums have shown a special interest as resource of phytochemicals, due to their high content of antioxidant compounds (Gil *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2003), together with other relevant healthy compounds such as carotenoids, vitamin C, dietary fiber and mineral elements (Chasquibol *et al.*, 2003). However, there is a wide variation in the content and composition of functional compounds in plums, this relative abundance will depend on cultivar and pre and postharvest factors that can alter their functional profile (Kalt, 2005). Thus, the aim of this work was to study the influence of storage temperature on the functional properties of six cultivars of Japanese plums.

MATERIALS AND METHODS

Fruit material

Plums (*Prunus salicina* Lindl.) cv ‘, ‘Black Diamond’, ‘Fortune’, ‘Larry Ann’ and ‘Angeleno’ were harvested from local crops in Badajoz (Extremadura, Spain) at commercial maturity. Fruits were rapidly pre-cooled by air-cooling until reaching 6 °C and then sorted and selected for uniform size and with absence of visual defects. Fruit was assayed at harvest plus shelf-life (harvest + SL) and after cold storage at 0 °C (0 °C + SL) and 5 °C (5 °C + SL) and 90 % RH. The postharvest storage was at least 42 days and this period increased depending on the storage potential of each cultivar. After storage, fruit was kept for 3-6 days at 20 °C (shelf-life), according to the cultivar.

Firmness and functional compounds

Flesh firmness was measured on two opposite sides of each fruit as maximum force (N) by penetration up to 8 mm, with an 8 mm cylindrical probe after removing fruit skin, in a Stable Micro Systems Texture Analyzer TA-XT2i (Aname, Madrid, Spain).

Functional compounds analyses were carried out on frozen fruit, previously stored at -80 °C. Phenolics were extracted from 5 g homogenate following the method described by Lima *et al.* (2005) and were determined using the Folin–Ciocalteu reagent in a UV-2450 PC spectrophotometer (Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, Maryland, USA). Gallic acid was used as a standard and the results were expressed as milligrams per 100 g of fresh weight (FW). Anthocyanins were extracted from 10 g following the method of González-Gómez *et al.* (2010). The absorbance of this extract was measured at 520 nm in a UV-2450 PC spectrophotometer. Quantification was carried out using cyanidin 3-O-glucoside as a standard, and the results were expressed as milligrams per 100 g of FW. The analysis of carotenoid pigments was performed applying the method proposed by Sabio *et al.* (2003) and the results were expressed as $\mu\text{g g}^{-1}$ β -carotene (FW). Total antioxidant activity (TAA) was determined according to Cano *et al.* (1998) on freshly prepared plum juice. The measurement was carried out in a UV-2401 PC spectrophotometer (Shimadzu Scientific Instruments). The results were expressed as Trolox equivalents in milligrams per 100 g (FW).

Data were analysed using ANOVA, when significant differences were detected, means were compared by a Tukey's test ($p < 0.05$). SPSS 17.0 statistical software was used.

RESULTS AND DISCUSSION

There was a decrease on fruit firmness during the postharvest storage for all plum cultivars, being higher on fruit stored at 5 °C than at 0 °C (Table 1). For 'Black Diamond', 'Fortune' and 'Larry Ann' plum cultivars, firmness values were appropriate for their marketability (13-26 N) after the cold storage at 0 °C, according to Valero *et al.* (2007). When these cultivars were stored at 5 °C, the flesh firmness was below 10 N, thus these fruit could be considered as "ready to eat". Finally, 'Angeleno' was the only one showing adequate firmness values at the end of storage (90 days) at 0 °C and 5 °C since this cultivar could be considered as suppressed-climacteric (Candan *et al.*, 2008).

The effect of temperature on phenolic compounds and total carotenoids content was different depending on the cultivar, except for 'Fortune' in which the measured amounts were similar in the whole period (Figures 1 and 2). The total phenols content index is one of the parameter that is strongly affected by extrinsic (cultural practices, weather conditions) and intrinsic factors to the fruit (cultivar, water and nutritional status, maturity, degree of metabolic stress) (Kalt 2005). This fact makes that different studies report different amount of total phenols contents in plums during postharvest (Tomás-Barberán *et al.*, 2001; Puerta-Gomez and Cisneros-Zevallos, 2011). Compared with other functional compounds, carotenoids represent a minority in all the studied plum cultivars.

During postharvest storage, the anthocyanins content increased significantly in all red plum cultivars, being higher at 5 °C than at 0 °C (Figure 3). These results confirm previous studies that observed an increase on anthocyanin content during the ripening of plum fruit at 20 °C (Manganaris *et al.*, 2007) and the continued synthesizing anthocyanins of the plum fruit during advanced senescence and beyond the ripening period (Puerta-Gomez and Cisneros-Zevallos, 2011). The total antioxidant activity (TAA) was higher at the end of the storage for 'Larry Ann' and 'Angeleno', regardless of temperature, TAA was positively correlated with the total anthocyanins concentration ($r = 0.528$, $p < 0.01$). The synthesis of these compounds was stimulated when the fruit was stored at 5 °C. As a result, it was found that the higher amount of functional compounds were measured in fruit stored at 5 °C, thus these postharvest conditions are an appropriate alternative to promote the synthesis of natural dyes and highly antioxidant compounds in fruit.

ACKNOWLEDGEMENTS

To "RITECA-II" (POCTEP 2007-2013), Junta de Extremadura and FEDER's funds for the financial support (Project GR10006). Dr. González-Gómez thanks to INIA for his research contract.

BIBLIOGRAPHY

- Candán, A.P., Graell, J., Larrigaudiere, C. (2008). Roles of climacteric ethylene in the development of chilling injury in plums. *Postharvest Biology and Technology* 47:107-112.
- Cano, A., Hernández-Ruiz, J., García-Cánovas, F., Acosta, M., Arnao, M.B. (1998). An end-point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material. *Phytochemical Analysis*, 9:196-202.
- Chasquibol, S.N., Lengua, C.L., Delmás, I., Rivera, C.D., Bazán, D., Aguirre, M.R., Bravo, A.M. (2003). Alimentos funcionales o fitoquímicos, clasificación e importancia. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 2(5):9-20.
- Crisosto, C.H., Garner, D., Crisosto, G.M., Bowerman, E. (2004). Increasing “Black amber” plum (*Prunus salicina* Lindell) consumer acceptance. *Postharvest Biology and Technology*, 34: 237-244.
- Gil, M.I., Tomás-Barberán, F.A., Hess-Pierce, B., Kader, A.A. (2002). Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids and vitamin C contents of nectarine, peach and plum cultivars from California. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:4976-4982.
- González-Gómez, D., Lozano, M., Fernández-León, M. F., Bernalte, M. J., Ayuso, M. C., Rodríguez, A.B. (2010). Sweet cherry phytochemicals: Identification and characterization by HPLC-DAD/ESI-MS in six sweet-cherry cultivars grown in Valle del Jerte (Spain). *Journal of Food Composition and Analysis*, 23:533-539.
- Kalt, W. (2005). Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science* 70:11-19.
- Kim, D.O., Weon Jeong, S., Lee, C.Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemical from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81:321-326.
- Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F., Griel, A. E., Etherton, T. D. (2002). Functional compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *American Journal of Medicine*, 113:71S-88S.
- Lima, V. L. A. G., Mélo, E. A., Maciel, M. I. S., Prazeres, F. G., Musser, R. S., Lima, D. E. S. (2005). Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. *Food Chemistry*, 90:565-568.
- Manganaris, G.A., Vicente, A.R., Crisosto, C.H., Labavitch, J.M. (2007). Effect of dips in a 1-Methylcyclopropene generating solution on ‘Harrow Sun’ plums stored under different temperature regimes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55:7015-7020.
- Puerta-Gomez, A., Cisneros-Zevallos, L. (2011). Postharvest studies beyond fresh market eating quality: Phytochemical antioxidant changes in peach and plum fruit during ripening and advanced senescence. *Postharvest Biology and Technology*, 60:220-224.
- Sabio, E., Lozano, M., Montero de Espinosa, V., Mendes, R.L., Pereira, A.P., Palavra, A.F., Coelho J.A. (2003). Lycopene and β -Carotene extraction from tomato

processing waste using supercritical CO₂. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 42(25):6641-6646.

Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I., Cremin, P., Waterhouse, A.L., Hess-Pierce, B., Kader, A.A. (2001). HPLC-DAD-ESIMS Analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches and plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49:4748-4760.

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

Tables**Table 1.** Firmness of plum cultivars at harvest and after cold storage plus shelf-life.

Plum Cultivars	Storage (days) +	Firmness (N)
	Shel-life (SL)	
‘Black Diamond’	Harvest + 6 SL	18.91a ± 1.70
	42 (0 °C) + 3 SL	15.56b ± 2.10
	42 (5 °C) + 3 SL	5.69c ± 0.82
‘Fortune’	Harvest + 3 SL	23.55a ± 2.02
	67 (0 °C) + 3 SL	12.79b ± 1.10
	67 (5 °C) + 3 SL	3.55c ± 0.59
‘Larry Ann’	Harvest + 5 SL	28.02a ± 3.90
	42 (0 °C) + 3 SL	17.74b ± 8.25
	42 (5 °C) + 3 SL	3.71c ± 0.40
‘Angeleno’	Harvest + 6 SL	30.87a ± 3.21
	90 (0 °C) + 6 SL	24.94b ± 2.94
	90 (5 °C) + 6 SL	18.08c ± 2.37

Mean values ± standard deviation (n=15). For each cultivar, values with different letters are significantly different by Tukey's test ($p < 0.05$).

Madrid 2012

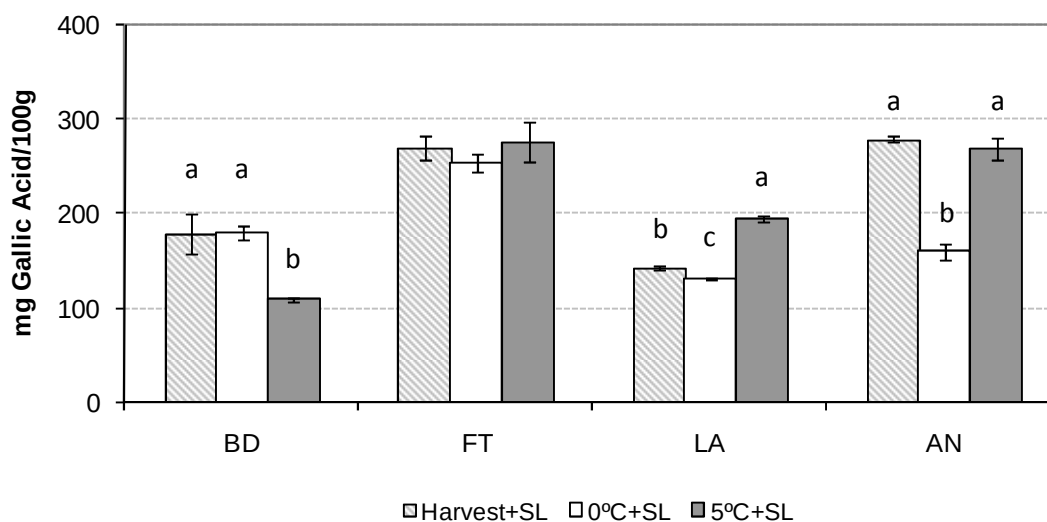
Figures

Figure 1. Total phenolics content of plum cultivars at harvest and after cold storage at 0 and 5 °C and shelf-life (20 °C) (BD, ‘Black Diamond’, FT, ‘Fortune’, LA, ‘Larry Ann’ and AN, ‘Angeleno’). Mean values $\pm$ standard deviation (n=3). For each cultivar, different letters indicate significant differences by Tukey’s test ($p<0.05$).

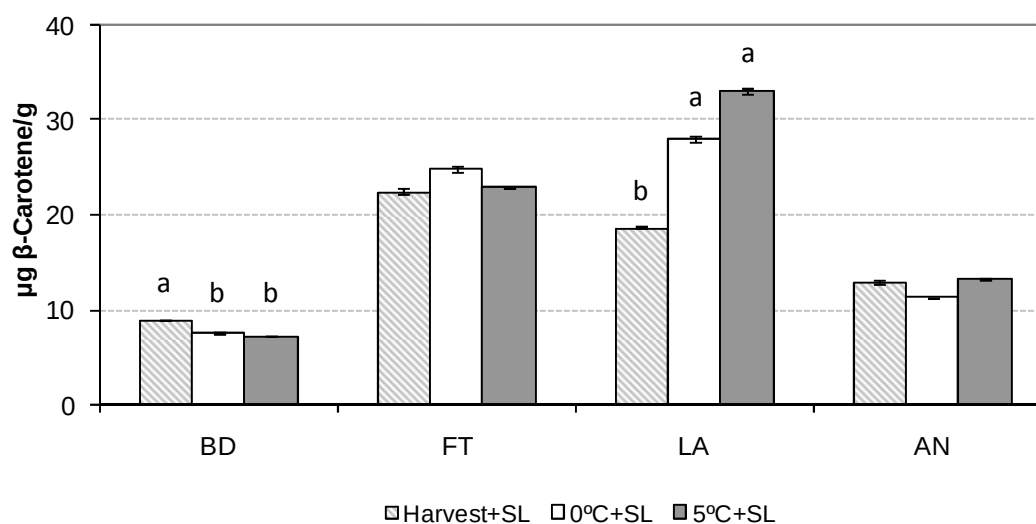


Figure 2. Total carotenoids content of plum cultivars at harvest and after cold storage at 0 and 5 °C and shelf-life (20 °C) (BD, ‘Black Diamond’, FT, ‘Fortune’, LA, ‘Larry Ann’ and AN, ‘Angeleno’). Mean values $\pm$ standard deviation (n=3). For each cultivar, different letters indicate significant differences by Tukey’s test ($p<0.05$).

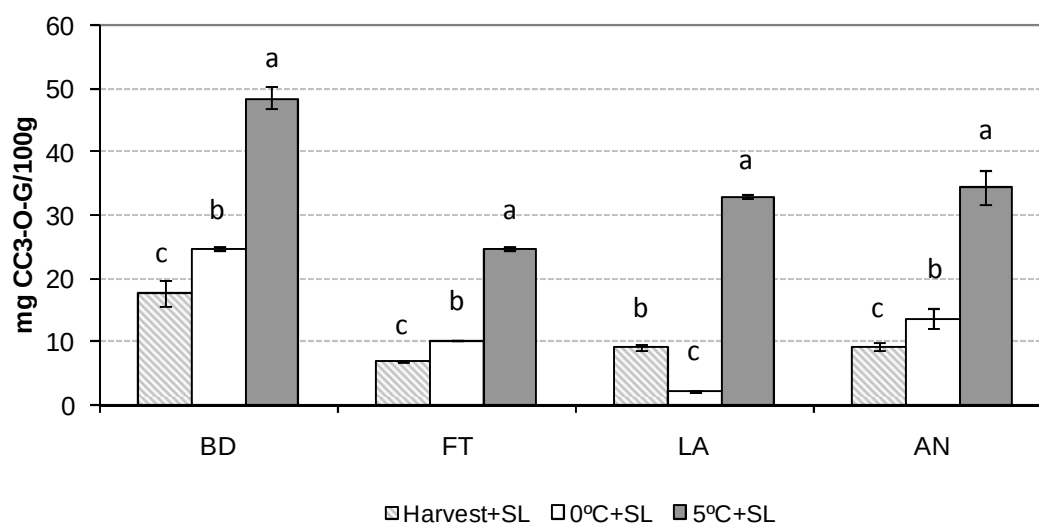


Figure 3. Total anthocyanins content of plum cultivars at harvest and after cold storage at 0 and 5 °C and shelf-life (20 °C) (BD, ‘Black Diamond’, FT, ‘Fortune’, LA, ‘Larry Ann’ and AN, ‘Angeleno’). Mean values $\pm$ standard deviation (n=3). For each cultivar, different letters indicate significant differences by Tukey’s test ($p < 0.05$).

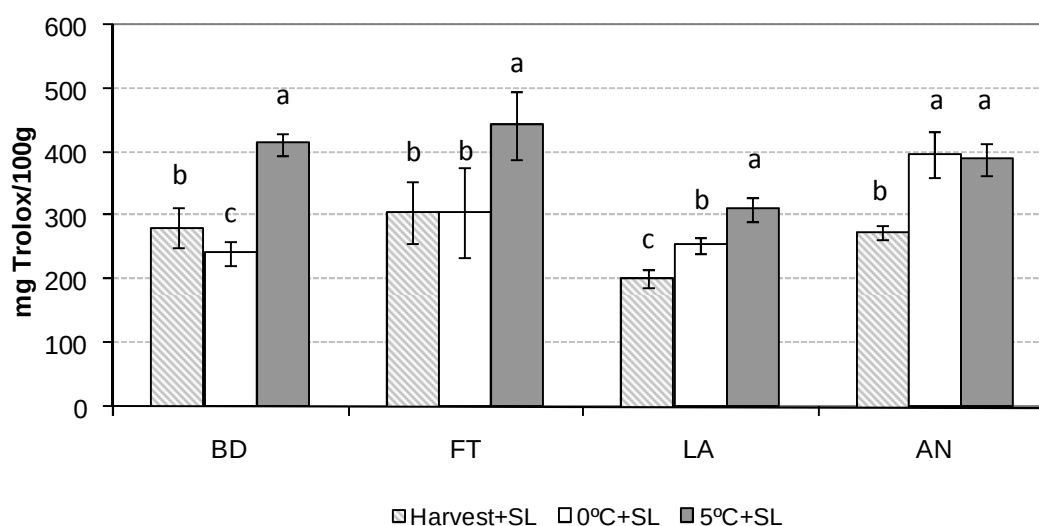


Figure 4. Total antioxidant activity of plum cultivars at harvest and after cold storage at 0 and 5 °C and shelf-life (20 °C) (BD, ‘Black Diamond’, FT, ‘Fortune’, LA, ‘Larry Ann’ and AN, ‘Angeleno’). Mean values $\pm$ standard deviation (n=6). For each cultivar, different letters indicate significant differences by Tukey’s test ($p < 0.05$).

Madrid 2012

BIOACTIVE COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN DIFFERENT PLUM CULTIVARS (COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES VARIEDADES DE CIRUELA)

Zapata, P.J.¹, Díaz-Mula, H.M.¹, Guillén, F.¹, Martínez-Romero^a D.¹, Castillo, S.¹, Serrano, M.², Valverde, J.M.¹, D. Valero, D.¹

¹Department of Food Technology, EPSO, University Miguel Hernández, Ctra Beniel km 3.2, E-03312 Orihuela, Alicante, Spain. ² Department of Applied Biology, EPSO, University Miguel Hernández, Ctra Beniel km 3.2, E-03312 Orihuela, Alicante, Spain

Abstract

In this work a comparative study on the evolution of bioactive compounds and antioxidant activity of eight plum cultivars (yellow and dark-purple) was performed in different ripening stage at harvest and changes during cold storage and subsequent shelf-life. At harvest, the colour hue angle was highly correlated with anthocyanins or carotenoids (in both skin and flesh). Total antioxidant activity (TAA) was determined in the hydrophilic (H-TAA) and lipophilic (L-TAA) fractions separately, and values were always higher in the skin than in the flesh. A continuous increase in both H-TAA and L-TAA during the process of ripening occurred. H-TAA was about twofold higher than L-TAA in the dark-purple cultivars, while the opposite was found in the yellow cultivars. In addition, H-TAA was correlated with total phenolics and total anthocyanins, while L-TAA was positively correlated with total carotenoids. During storage, increases in total phenolics for all cultivars (peel and pulp), in total anthocyanin content in the peel of the dark-purple plums, and total carotenoids in the peel and pulp of the yellow cultivars were observed. This behaviour of the bioactive compounds was reflected in TAA changes, since H-TAA was correlated with both phenolics and anthocyanins, while L-TAA was correlated with carotenoids. In order to achieve the optimal health-beneficial properties of plum consumption, it would be advisable to harvest the fruits at the fully ripe stage. In addition, no significant loss of bioactive compounds and TAA occurred during prolonged plum storage.

Resumen

En este trabajo se ha llevado a cabo un estudio comparativo sobre la evolución de los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante de ocho variedades de ciruela (de piel amarilla y morada) en diferentes estados de maduración y durante la conservación poscosecha en frío y en condiciones de shelf-life. En el momento de la recolección, el ángulo Hue del color fue altamente relacionado con los niveles de antocianinas y carotenoides (tanto en la piel como en la pulpa). La Actividad Antioxidante Total (AAT) fue determinada de forma individual en la fracción hidrosoluble (AAT-H) y la fracción liposoluble (AAT-L), y los valores mostrados fueron mayores en la piel que en la pulpa de los frutos. Se observó un incremento en ambas fracciones (AAT-H y AAT-L) durante la maduración de las ciruelas. En las variedades moradas, la AAT-H fue dos veces mayor que la AAT-L, mientras que lo contrario fue lo que ocurrió en las variedades amarillas. Además, la AAT-H se pudo correlacionar con los niveles de fenoles totales y antocianinas totales, mientras que la fracción liposoluble se correlacionó con los carotenoides. Durante la poscosecha, se observó un incremento en los fenoles totales de todas las variedades estudiadas (piel y pulpa), en las antocianinas

Madrid 2012

totales de la piel de las ciruelas moradas, y en los carotenoides de la piel y pulpa de las variedades amarillas. Este comportamiento de los compuestos bioactivos se pudo observar también en la AAT, ya que la AAT-H se pudo correlacionar con los fenoles totales y las antocianinas, mientras que la AAT-L se correlacionó con los carotenoides. Con el propósito de conseguir las mejores propiedades funcionales beneficiosas para la salud cuando se consumen ciruelas, sería deseable recolectar los frutos en un estado de madurez total. Además, no se han encontrado pérdidas significativas en el contenido de compuestos bioactivos y en la AAT durante el almacenamiento prolongado de ciruelas.

INTRODUCCIÓN

Las ciruelas son una de las frutas más consumidas a nivel mundial debido fundamentalmente al grado de aceptación que tienen por parte de los consumidores. Para las ciruelas, y en general para los frutos del género *Prunus*, el grado de aceptación depende fundamentalmente de sus características organolépticas (Crisosto *et al.*, 2004), sin embargo, hoy día están cobrando una gran importancia otras propiedades como el potencial antioxidante debido al contenido en compuestos bioactivos con un papel protector de la salud frente a enfermedades tan extendidas como el desarrollo del cáncer y enfermedades cardiovasculares (Schreiner y Huyskens-Keil, 2006; Chen *et al.*, 2007).

De entre los componentes de calidad que se pueden destacar en la ciruela, sin duda, la coloración es el atributo que más influye en la decisión de compra por parte de los consumidores. Según la coloración del fruto, las ciruelas las podemos clasificar en amarillas, rojo-moradas y verdes. Entre los consumidores, está ampliamente aceptado que por lo general tanto las amarillas como las rojo-moradas son muy jugosas, sin embargo son estas últimas las que se consideran más dulces. En la bibliografía, se pueden encontrar un amplio rango en la concentración de fitoquímicos en el momento de la recolección, siendo en este caso la variedad el factor que más influye en el potencial antioxidante, debido a las grandes diferencias encontradas en la concentración de vitamina C, carotenoides, polifenoles y antocianos (Gil *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2003).

Por otro lado, es interesante conocer como varía durante la conservación refrigerada y simulando las condiciones de comercialización, shelf-life, el contenido en compuestos bioactivos y la actividad antioxidante, ya que como es bien sabido, la refrigeración es una herramienta esencial para alargar la vida útil de las frutas y hortalizas. Por tanto, el objetivo de este trabajo ha sido valorar las propiedades beneficiosas para la salud que tienen las ciruelas debido al contenido en compuestos bioactivos y potencial antioxidante en el estado de maduración comercial y de maduración completa, que nos permita determinar cual es el estado idóneo para comenzar la conservación y ver igualmente como varían estos compuestos durante la misma.

MATERIAL Y MÉTODOS

Madrid 2012

El ensayo se ha llevado a cabo con ocho variedades de la especie *Prunus salicina* Lindl., comúnmente conocido como ciruelo japonés, de estas ocho variedades cuatro de ellas eran de color morado: Angeleno, Blackamber, Black Diamond y Larry Ann; y las otras cuatro de color amarillo: Golden Japan, Golden Globe, Songold y TC Sun. En un primer ensayo se ha llevado a cabo la recolección de los frutos en el estado de madurez comercial y una semana después, esperando así que las ciruelas alcanzaran la plena madurez de consumo en el árbol. En el segundo ensayo, se ha trabajado con ciruelas recolectadas en el estado de madurez comercial, haciendo un seguimiento poscosecha del almacenamiento en frío y con cuatro días más a 20 °C, simulando así las condiciones de comercialización que llamaremos shelf-life, tomando las muestras semanalmente con una duración total de 39 días desde la recolección.

Las determinaciones analíticas realizadas fueron:

- **Antocianos Totales**: fueron determinados según el método publicado por García-Viguera *et al.* (1999) y adaptado por Serrano *et al.* (2005). Los resultados se expresan en mg equivalentes de Cianidin 3-glucósido por kg de peso fresco, y los resultados son la media de cinco repeticiones medidas por duplicado $\pm$ ES.

- **Carotenoides Totales**: la extracción fue realizada según el método publicado por Mínguez-Mosquera y Hornero-Méndez (1993) y medidos por absorbancia a 450 nm. Los resultados se expresan en mg equivalentes de β -caroteno por kg de peso fresco, y los resultados son la media de cinco repeticiones medidas por duplicado $\pm$ ES.

- **Fenoles Totales**: se extrajeron según el método descrito por Tomás-Barberán *et al.* (2001) usando una disolución de metanol:agua (80:20) con NaF (2mM) y cuantificados con el reactivo Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999). Los resultados se expresan en mg equivalentes de ácido gálico por kg de peso fresco, y los resultados son la media de cinco repeticiones medidas por duplicado $\pm$ ES.

- **Actividad Antioxidante Total**: fue determinada mediante la suma de la determinación individualizada de la fase hidrofílica y lipofílica, extraídas y cuantificadas como describen Sayyari *et al.* (2010). Los resultados se expresan en mg equivalentes de Trolox por kg de peso fresco, y los resultados son la media de cinco repeticiones medidas por duplicado $\pm$ ES.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los dos estados de madurez en el que se recolectaron las ciruelas, las variedades de color morado fueron las que tenían antocianos, aunque la concentración de estos era mayor en el estado de madurez más avanzado (Tabla 1). Las antocianinas, se encontraron tanto en la piel como en la pulpa, pero en esta última del orden de 50 veces menos que en la piel del fruto. Por el contrario, y como cabía esperar, no se detectaron antocianos en las variedades amarillas, ya que como es bien conocido, son estos compuestos los responsables de las coloraciones rojo/moradas en los frutos (Ceballos-Casals *et al.*, 2006; Vizzotto *et al.*, 2007). Durante la conservación poscosecha, se observó como las variedades moradas presentaron un patrón similar en

Madrid 2012

la piel y pulpa, aumentando desde el primer día hasta el final del experimento (Figura 1). Sin embargo, en la pulpa el patrón que seguían los antocianos durante la conservación era dependiente de la variedad, Black Diamond y Larry Ann disminuían mientras que Angeleno y Blackamber permanecían más o menos constantes.

Para las ocho variedades estudiadas, los carotenoides fueron determinados tanto en la piel como en la pulpa, y en general se pudo apreciar como al igual que ocurría con los antocianos, estos compuestos se encontraban en una mayor concentración en el estado de madurez más avanzado (Tabla 1). Sin embargo, los niveles de carotenoides exhibidos, fueron dependientes de la variedad, mostrando mayores niveles en la piel los frutos de color amarillo. Aunque en la pulpa se pudo observar, como dos variedades de color morado, Blackamber y Larry Ann, mostraron concentraciones elevadas de estos compuestos. Durante la conservación poscosecha, los carotenoides mostraron un comportamiento diferente dependiendo de la variedad, ya que las variedades de color amarillo mostraron un pequeño incremento durante el almacenamiento, mientras que por el contrario, las variedades de color morado presentaban un mantenimiento de estos compuestos, y estos resultados fueron similares para piel y pulpa e independientemente del método de conservación que empleamos (sólo 2 °C o con 4 días más a 20 °C) (Figura 2).

La concentración en compuestos fenólicos fue muy superior en la piel que en la pulpa, aunque pudieron encontrarse diferencias significativas entre las diferentes variedades, si bien los niveles mostrados por las ocho variedades se encuentran entre los publicados por otros autores, pudiendo afirmar de forma general, que el contenido en estos compuestos bioactivos suele ser mayor en las variedades moradas que las amarillas (Gil *et al.*, 2002; Chun *et al.*, 2003; Los *et al.*, 2000) (Tabla 1). Durante la poscosecha, tanto en frío como en condiciones shelf-life, se observa un patrón similar en las ocho variedades estudiadas, mostrándose un leve incremento en la concentración de estos compuestos que fue mayor en la pulpa que en la piel (Figura 3). En general, las diferencias de concentración que se encuentran entre las variedades en el momento de la recolección se mantienen durante el almacenamiento a 2 °C y con 4 días más a 20 °C.

En general, la AAT como resultado de sumar las fracciones hidrosolubles y liposolubles, es mayor en las ciruelas moradas que las amarillas, y tanto en la piel como en la pulpa, el potencial antioxidante es superior cuando alcanza la madurez fisiológica en el árbol, es decir, cuando se recolecta una semana más tarde (Figura 4). En las variedades moradas, la AAT-H es superior que la fracción liposoluble, al contrario que las variedades amarillas, excepto para Songold. Por otro lado, se observó como los compuestos fenólicos y el potencial antioxidante hidrosoluble estaban correlacionados positivamente en todas las variedades, lo que ya se había observado en esta misma y otras especies del género *Prunus* (Gil *et al.*, 2002; Chun *et al.*, 2003). Igualmente, en las variedades moradas, el contenido en antocianinas también se pudo relacionar con la AAT-H, lo que nos indicaría que podrían contribuir más a la AAT que otro tipo de compuestos bioactivos. Durante la poscosecha, los resultados obtenidos muestran un pequeño incremento en la piel y en la pulpa de la AAT-H (datos no mostrados), y este patrón es similar para todas las variedades, por lo que las diferencias comentadas en la recolección se mantienen durante el almacenamiento refrigerado y con 4 días más a 20 °C.

Madrid 2012

Hasta la fecha, la mayoría de los trabajos presentados presentan la AAT únicamente medida como AAT-H, sin embargo en nuestro trabajo nosotros hemos determinado también la AAT-L, observándose diferencias igualmente entre las variedades estudiadas. Estas diferencias entre variedades, se pudieron relacionar con el contenido en carotenos, tanto en la piel como en la pulpa (Figura 2). Durante la poscosecha, en general se observa un mantenimiento del potencial antioxidante de esta fracción lipofílica.

Como conclusiones más importantes, podríamos afirmar que desde un punto de vista de la salud, las ciruelas moradas serían más saludables que las amarillas, y lo que es más importante, que para ambos tipos es preferible recolectar en un estado de madurez más avanzado, ya que el contenido en compuestos bioactivos es una 10-20% superior que en el estado de madurez comercial, además es de esperar que las características organolépticas igualmente se vean favorecidas. Igualmente, podríamos afirmar que no existen pérdidas notables en el contenido de compuestos bioactivos y el potencial antioxidante durante la conservación a 2 °C ni simulando las condiciones de comercialización (4 días más a 20 °C).

BIBLIOGRAFIA

- Cevallos-Casals B.A., Byrne D., Okie W.R. and Cisneros-Zevallos L. 2006. Selecting new peach and plum genotypes rich in phenolic compounds and enhanced functional properties. *Food Chem.* 96:273–280.
- Chen L, Wigneault C, Raghavan GSV and Kubow S, Importance of the phytochemical content of fruits and vegetables to human health. *Stewart Postharv Rev* 3:2 (2007).
- Chun O.K., Kim D.O. and Lee C.Y. 2003. Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *J. Agric. Food. Chem.* 51:8067–8072.
- Crisosto C.H., Garner D., Crisosto G.M. and Bowerman E. 2004. Increasing ‘Blackamber’ plum (*Prunus salicina* Lindell.) consumer acceptance. *Postharvest Biol. Technol.* 34:237–244.
- García-Viguera C., Zafrilla P., Romero F., Abellán P., Artés, F. and Tomás-Barberán F.A., 1999. Color stability of strawberry jam as affected by cultivar and storage temperature. *J. Food Sci.* 64:243–247.
- Gil M.I., Tomás-Barberán F.A., Hess-Pierce B. and Kader A.A. 2002. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *J. Agric. Food Chem.* 50:4976–4982.
- Kim D.O., Chun O.K., Kim Y.J., Moon H.Y. and Lee C.Y. 2003. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J Agric Food Chem* 51:6509–6515.
- Los J., Wilska J.J. and Pawlak M. 2000. Polyphenolic compounds of plums (*Prunus domestica*). *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 9:35–38.

Madrid 2012

- Mínguez-Mosquera M.I. and Hornero-Méndez D. 1993. Separation and quantification of the carotenoid pigments in red peppers (*Capsicum annuum* L.), paprika, and oleoresin by reversed phase HPLC. *J. Agric. Food Chem.* **41**:1616–1620.
- Sayyari M., Valero D., Babalar M., Kalantari S., Zapata P.J., and Serrano M. 2010. Prestorage Oxalic Acid Treatment Maintained Visual Quality, Bioactive Compounds, and Antioxidant Potential of Pomegranate after Long-Term Storage at 2 °C. *J. Agric. Food Chem.*, **58**, 6804–6808.
- Schreiner M and Huyskens-Keil S, Phytochemicals in fruit and vegetables: health promotion and postharvest elicitors. *Crit Rev Plant Sci* **25**:267–278 (2006).
- Serrano M., Guillén F., Martínez-Romero D., Castillo S. and Valero D. 2005, Chemical constituents and antioxidant activity of sweet cherry at different ripening stages. *J. Agric. Food Chem.* **53**: 2741–2745.
- Singleton V.L., Orthofer R. and Lamuela-Raventós R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Meth Enzymol* **299**:152–178.
- Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I., Cremin, P., Waterhouse, A.L., Hess-Pierce, B., Kader, A.A., 2001. HPLD–DAD–ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 4748–4760.
- Vizzotto M., Cisneros-Zevallos L., Byrne D.H., Ramming D.W. and Okie W.R. 2007. Large variation found in the phytochemical and antioxidant activity of peach and plum germplasm. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* **132**: 334–340.

Madrid 2012

Tabla 1: Contenido en compuestos bioactivos (Fenoles, Antocianos y Carotenos Totales) de ocho variedades de ciruela en piel y pulpa en dos estados de maduración (comercial y fisiológico).

Piel	Fenoles Totales (mg Ac Galico kg ⁻¹ PF)		Antocianos Totales (mg C 3-Glu kg ⁻¹ PF)		Carotenos Totales (mg β Caro kg ⁻¹ PF)	
	Comercial	Fisiológica	Comercial	Fisiológica	Comercial	Fisiológica
Angeleno	2183±81	2414±51	5228±123	7447±145	-	-
Blackamber	4109±39	4783±85	6812±24	8483±302	-	-
Black Diamond	1349±47	1441±46	1623±67	2665±98	-	-
Larry Ann	2872±94	3246±101	3643±53	5372±165	-	-
Golden Japan	661±50	708±79	-	-	17±1	18±1
Golden Globe	1181±6	1612±75	-	-	35±1	42±1
Songold	1993±68	2454±58	-	-	55±1	76±2
TC Sun	797±47	921±45	-	-	27±1	29±1
Pulpa	Fenoles Totales (mg Ac Galico kg ⁻¹ PF)		Antocianos Totales (mg C 3-Glu kg ⁻¹ PF)		Carotenos Totales (mg β Caro kg ⁻¹ PF)	
	Comercial	Fisiológica	Comercial	Fisiológica	Comercial	Fisiológica
Angeleno	331±10	514±6	21±4	25±4	6±0.1	7±0.1
Blackamber	1548±11	1676±34	97±6	112±4	-	-
Black Diamond	229±10	287±9	65±3	157±12	-	-
Larry Ann	329±11	343±11	24±1	48±1	11±0.1	12±1
Golden Japan	395±15	422±20	-	-	4±0.1	4±0.1
Golden Globe	464±5	718±25	-	-	9±0.3	11±0.2
Songold	612±2	732±9	-	-	7±0.4	8±0.6
TC Sun	355±16	406±6	-	-	6±0.2	9±0.2

Madrid 2012

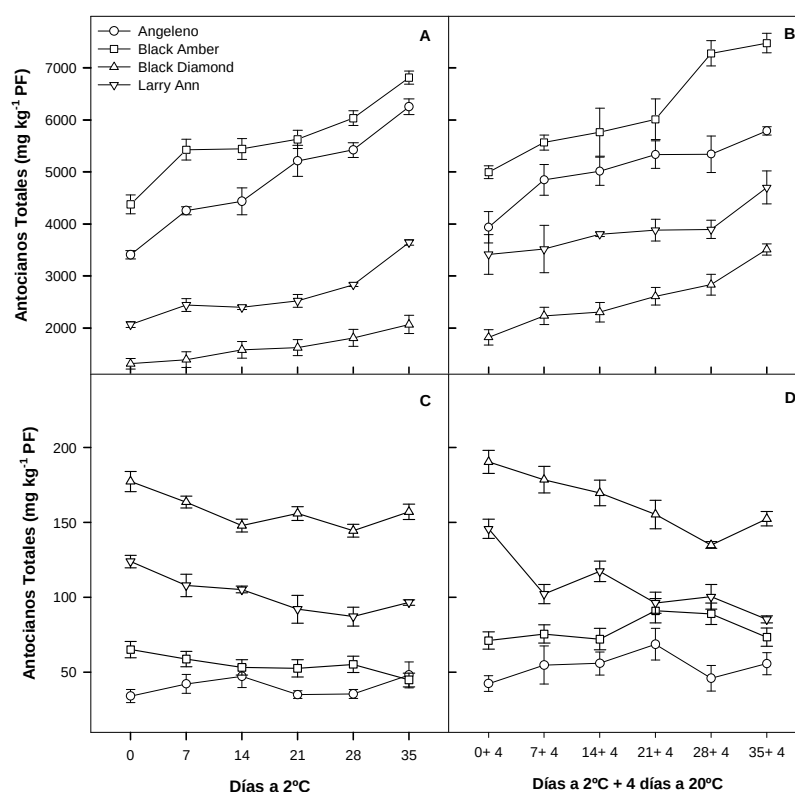


Figura 1: Antocianos Totales de cuatro variedades moradas de ciruela durante la conservación en frío y con 4 días más a 20 °C, medidos en la piel y en la pulpa

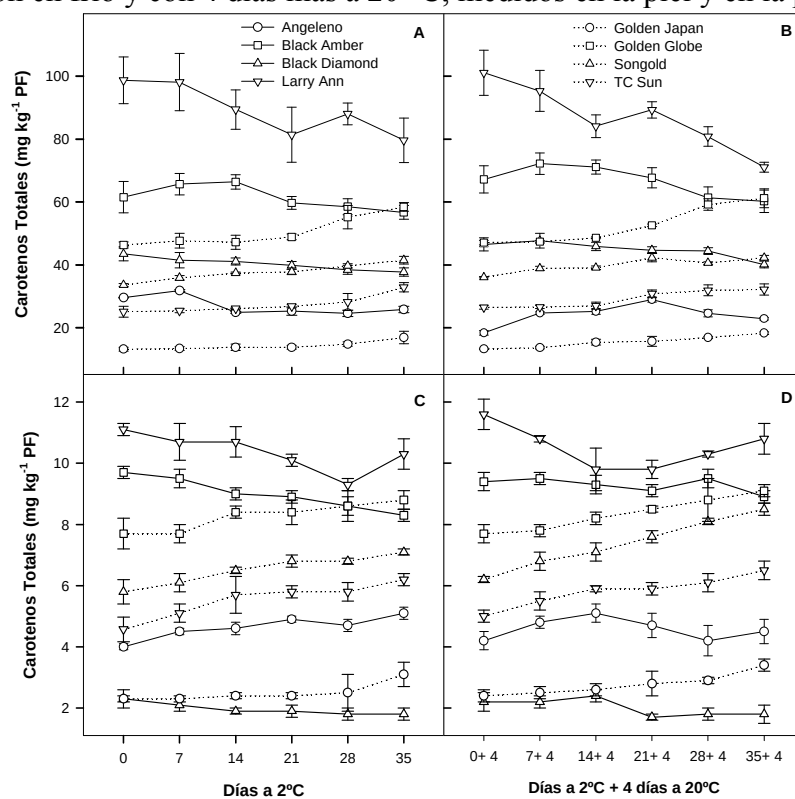


Figura 2: Carotenos Totales de ocho variedades de ciruela durante la conservación en frío y con 4 días más a 20 °C, medidos en la piel y en la pulpa

Madrid 2012

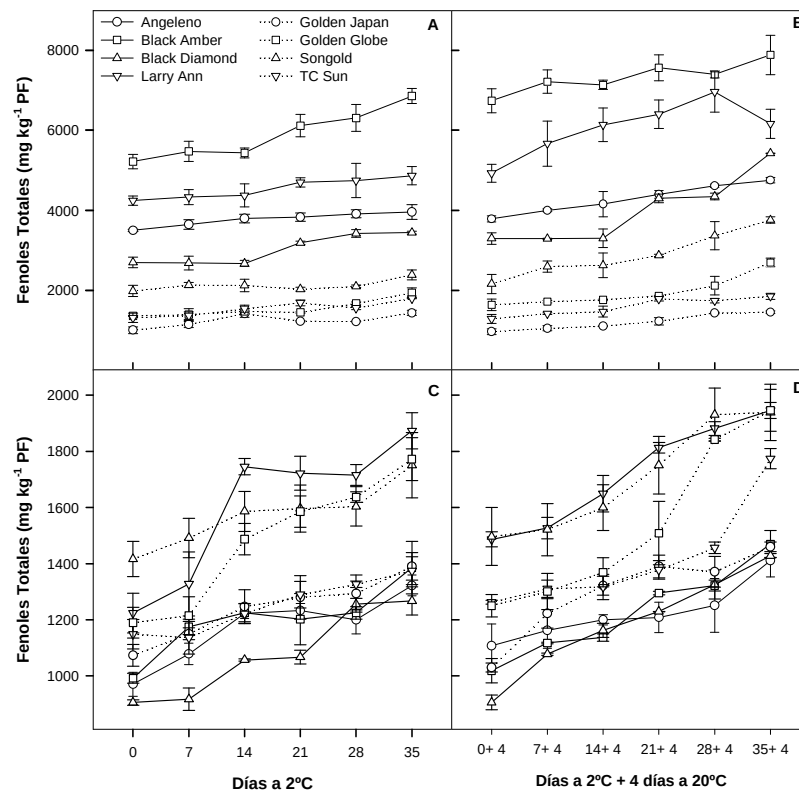


Figura 3: Fenoles Totales de ocho variedades de ciruela durante la conservación en frío y con 4 días más a 20 °C, medidos en la piel y en la pulpa

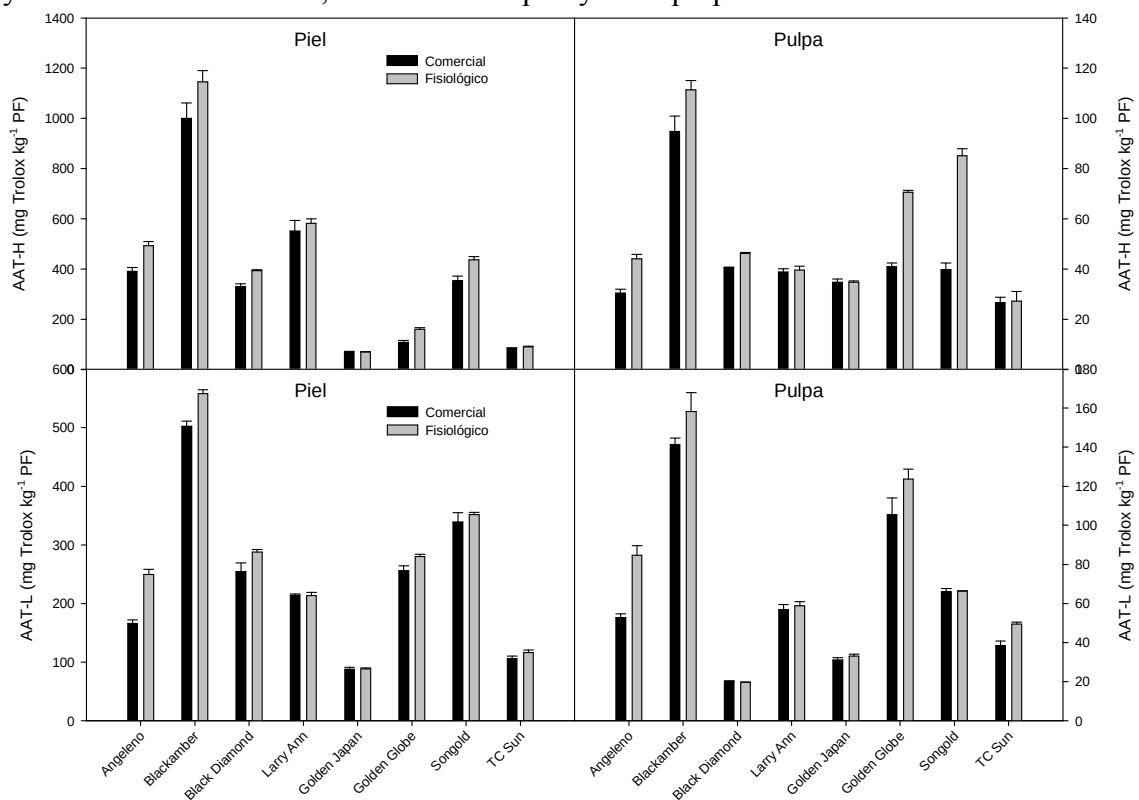


Figura 4: Actividad Antioxidante Total Hidrosoluble (AAT-H) y Liposoluble (AAT-L) de ocho variedades de ciruela en dos estados de maduración (comercial y fisiológico).

Madrid 2012

Madrid 201

PHYTOCHEMICAL AND BIOACTIVITY CHARACTERIZATION OF NINE SWEET CHERRY VARIETIES

Serra, A. T.^{1,2}, Rosário Bronze, M.^{1,2,3}, Duarte, Catarina M. M.^{1,2,*}

¹- Instituto de Biologia Experimental e Tecnológica, Avenida da República, Quinta-do-Marquês, Estação Agronómica Nacional, Apartado 12, 2781-901 Oeiras, Portugal ; ²- Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa, Avenida da República, Estação Agronómica Nacional, 2780-157 Oeiras, Portugal; ³- iMED, Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Av. das Forças Armadas, 1649-019 Lisboa, Portugal; *- e-mail:cduarte@itqb.unl.pt

Abstract

Sweet cherries are a very attractive fruit to consumers, for their taste and colour attributes, as well as for their wealth of nutrients. Moreover, cherries are a good source of natural antioxidant substances, namely polyphenols, which are known to have many health benefits. The presence of these compounds in cherry varies considerably and seems to be regulated by several factors, including climatic conditions, maturity, storage and fruit variety, and therefore the health-promoting effect could diverge significantly.

Within this context, the main aim of this work was to evaluate and compare the phytochemical content and the biological activities of nine sweet cherries growing in Portugal, including two traditional varieties, namely *Saco* and *Morangão*, and seven exotic cultivars (*Lapin*, *Garnet*, *Ulster*, *Maring*, *Summit*, *Van* and *Early Van Compact*), in an effort to distinguish promising functional fruits. The phenolic content was evaluated by spectrophotometric and HPLC assays whereas the antioxidant properties were assessed using four different and complementary *in vitro* methodologies (ORAC, HORAC, EPR, LDL-oxidation). Intracellular antioxidant activity and antiproliferative capacity using different human cell models (Caco2, HT29 and MKN45) were also performed. Principal components analysis (PCA) was chosen for data treatment in order to facilitate the comparison of the results obtained for 24 parameters evaluated for nine samples.

Results obtained showed that traditional Portuguese *Saco* cherry and two exotic cultivars (*Ulster* and *Lapin*) had the highest phenolic content, exhibited the highest antioxidant properties and were the most effective in inhibiting human colon and gastric cancer cells growth. Correlation of the data indicated that anthocyanins are the major contributors of the antioxidant capacity and antiproliferative effect of cherries. Furthermore, hydroxycinnamic acids (neochlorogenic acid, chlorogenic acid and p-coumaroylquinic acid), flavan-3-ols (catechin and epicatechin) and flavonols (rutin and quercetin-3-glucoside) play also an important role in protection against oxidative stress.

Keywords: *Prunus avium*, biochemical compounds, *in vitro*, antioxidant activity, human cancer cells

INTRODUCTION

In recent years many studies on sweet cherries have revealed that they are rich sources of bioactive compounds including flavonoids (anthocyanins, flavan-3-ols and flavonols), hydroxycinnamic acids and hydroxybenzoic acids (Gao and Mazza, 1995;

Madrid 201

Gonçalves *et al.*, 2004a). Among these compounds, especial interest has been focused on anthocyanins, which are the polyphenols responsible for the red skin and flesh colour of fruits, due to their strong antioxidant and anti-inflammatory activities (Blando *et al.*, 2004). Several studies showed that cherry anthocyanins, and especially cyanidins, have potential to inhibit tumour growth, slow cardiovascular diseases and retard the aging process (Zhang *et al.*, 2005). Additionally, other flavonoids identified in cherry varieties, such as quercetin, kaempferol, rutin, catechin and epicatechin and phenolic acids (neochlorogenic acid, chlorogenic acid and p-coumaroylquinic acid), are widely reported to act as powerful antioxidants and anticancer agents (Mattila *et al.*, 2006). The presence of these compounds in cherry varies considerably and seems to be regulated by environmental and post-harvest factors, including climatic conditions, fruit maturity and storage (Gonçalves *et al.*, 2004a, 2004b; Serrano *et al.*, 2005). In addition, large variations in the content were detected between different varieties (Gonçalves *et al.*, 2004a; Usenik *et al.*, 2008) which means that the biological activity, and consequently the health-promoting effect of sweet cherries could vary significantly.

In Portugal, the annual production of cherries is around 15,000 tons and its cultivation is concentrated in the northeast of the country, in a region called “Beira Interior”. In particular, “Cova da Beira” cherry has protected geographical indication (PGI) registration according to the EU regulations. This cherry is produced in the counties of Fundão, Covilhã and Belmonte, and covers both regional and non-regional varieties.

The aim of this work was to evaluate and compare the bioactive effects of the nine sweet cherry cultivars growing in Portugal, in an effort to distinguish promising functional fruits.

MATERIALS & METHODS

Materials. Methanol (MetOH), 2',2'-Azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH), 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox), caffeic acid, cobalt fluoride tetrahydrate (CoF₂), bovine serum albumin (BSA), Bradford reagent, 5,5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide (DMPO), hydrogen peroxide (H₂O₂) methylthiazolyldiphenyl - tetrazolium bromide (MTT), phosphate buffer solution (PBS) and t-butyl hydroperoxide (t-BHP) were purchased from Sigma-Aldrich (St. Quentin Fallavier, France). Disodium fluorescein (FL) was obtained from TCI Europe (Antwerp, Belgium) and FeSO₄ was from Merck (Darmstadt, Germany). Human low density lipoprotein (LDL) was purchased from Calbiochem (Darmstadt, Germany). All cell culture media and supplements, namely fetal bovine serum (FBS), glutamine and RPMI 1640, were obtained from Invitrogen (Gibco; Invitrogen, Corporation, Paisley, UK). Employed standards for HPLC analysis were all from Extrasynthèse (Genay, France).

Cherry cultivars. Sweet cherries from traditional cultivars (Saco and Morangão) and exotic varieties (Summit, Maring, Van, Early Van Compact, Lapin, Ulster and Garnet), grown in “Cova da Beira” (Portugal), were randomly harvested by hand between May and June of 2008. Within 1 h of harvest all samples were packaged and frozen at -20 °C for 4-10 weeks before analysis were carried out.

Madrid 201

Extraction procedure. Cherry extracts were prepared following the method described by Gonçalves et al. (2004a) with some modifications. Briefly, cherry seeds were carefully removed by hand and the edible part of the fruit was dehydrated in a freeze drier. Then, dried cherries were milled and further extracted with of MetOH 60% at 2000rpm for 10 minutes (ratio 1:20 w/v). The homogenates were filtered under vacuum and the solvent was evaporated at 40°C. The remaining extracts were diluted in distilled water to make a final concentration of 0.2 g of dry cherry/mL. Cherry extracts were filtered through 0.22 µm filter and storage at -20°C until analysis.

Total phenolic content. The total concentration of phenolic compounds present in cherry extracts was determined according to the modified Folin Ciocalteu colorimetric method (Singleton and Rossi, 1965). Results were expressed in mg as gallic acid equivalents (GAE) per 100g of edible fruit (dry weight- dw).

Total anthocyanin content. Total anthocyanins content was estimated by pH differential absorbance method as described by Wroslstad (2000). Results were expressed as mg cyanidin-3-glucoside (C3g) equivalents per 100g dw of edible fruit.

HPLC analysis. HPLC analysis of phenolic compounds was carried out using a Surveyor equipment from Thermo Finnigan with a diode array detector (Thermo Finnigan—Surveyor, San Jose, CA, USA) and an electrochemical detector (Dionex, ED40) (Serra, 2010). The data acquisition systems were the Chromquest version 4.0 (Thermo Finnigan—Surveyor, San Jose, CA, USA) and the software 4880 (Unicam) for the diode array and electrochemical detector, respectively. Identification of compounds was done by comparing retention time, spectra and spiking samples with known amounts of pure standards, whenever available. The quantities of the different phenolic compounds were assessed from peak areas and were calculated as equivalents of six representative standard compounds.

ORAC assay. The assay was carried out following the method of Huang et al. (2002), adapted for microplate fluorescent reader (FL800 Bio-Tek Instruments, Winooski, VT, USA) (Serra, 2010). ORAC results were expressed as micromoles of trolox equivalents antioxidant capacity per gram of dry weight (µmol TEAC/g dw).

HORAC assay. The HORAC assay was adapted from Ou et al (2002) and modified for the FL800 microplate fluorescence reader as described by Serra et al. (2010). Data were expressed as micromoles of caffeic acid equivalents per gram of dry cherries (µmol CAE/g dw).

EPR assay. The ability of extracts to scavenge hydroxyl radicals was performed by EPR measurements, using a Bruker EMX6/1 spectrometer (Bruker Instruments, Billerica, MA) and a flat cell assembly as described by Serra et al. (2010). Experiments were performed in duplicate, at room temperature under atmospheric pressure. The scavenging capacities of cherry extracts were determined by measuring the intensity of their spectrum and final results were expressed in percentage relative to the control.

Inhibition of LDL oxidation. The ability of cherry extracts (0.25 µg dw/mL) to inhibit human LDL oxidation was evaluated by conjugated diene formation as described previously (Serra et al., 2010). Final results were expressed in terms of percentage of lag time retardation relative to the control (without extract).

Madrid 201

Cellular antioxidant activity. The cellular antioxidant capacity was evaluated in confluent Caco2 cells using DCFH-DA assay as described previously (Serra *et al.*, 2010). Cellular antioxidant activity of cherry extracts (10mg/mL) was expressed as the percentage of inhibition of intracellular ROS caused by exposure to the oxidative stressors (H₂O₂ and t-BHP) and was calculated as $(1-(F_{60min}-F_{0min})/F_{0min}) \times 100$ against a control (cells without cherry extracts).

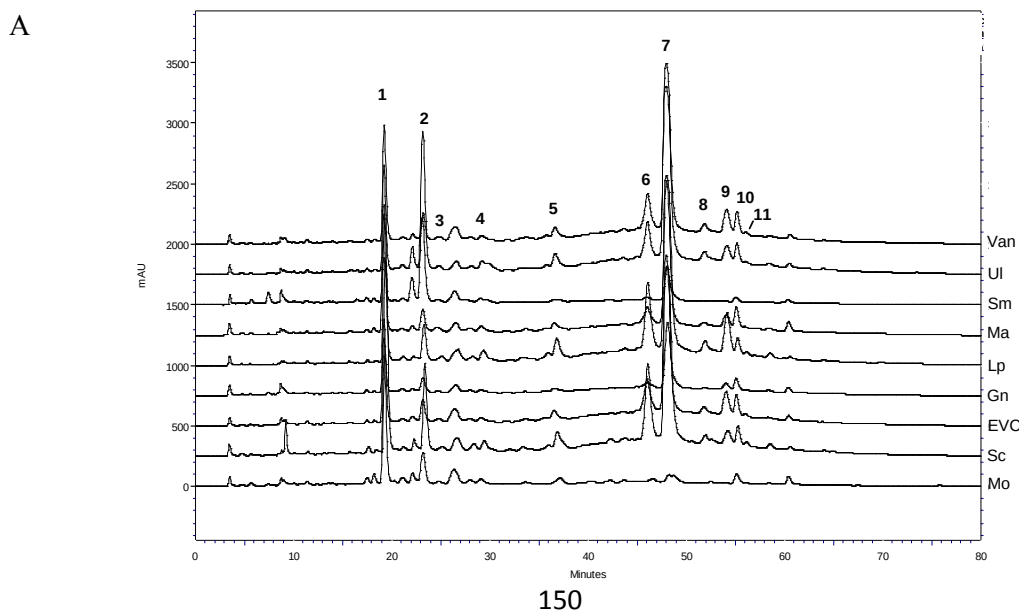
Antiproliferative activity. Antiproliferative cell assays were performed in human colon cancer cells HT29 (ATCC, USA) and human gastric cancer cells MKN45 (kindly provided by Dr. Celso Reis -IPATIMUP, Portugal) as described previously (Serra *et al.*, 2010). The results were expressed in terms of effective dose values (ED₅₀), which are the amount of cherry extract necessary to decrease 50% of the cellular viability after 96h of cell proliferation.

Data analysis. The NTSYS was used for principal component analysis (PCA).

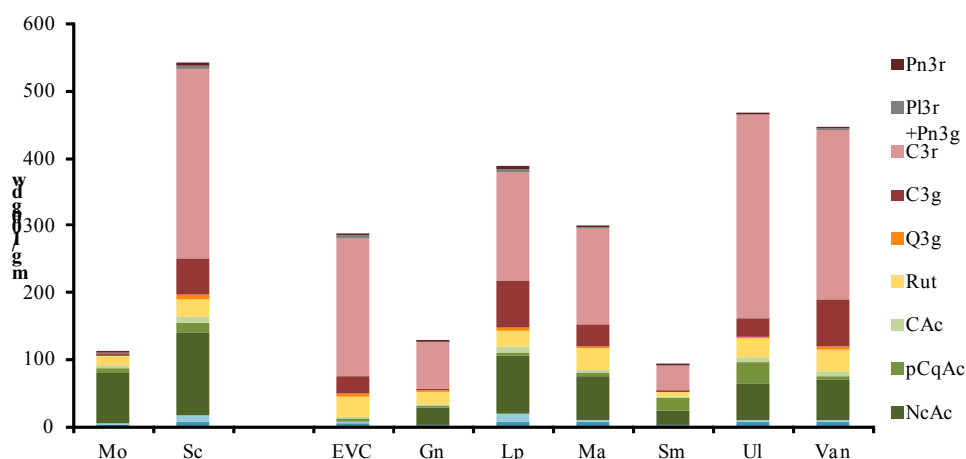
RESULTS & DISCUSSION

Nine sweet cherry varieties were characterized in terms of bioactive compounds, namely polyphenols and anthocyanins. In Figure 1A is presented the HPLC of samples and, as it can be seen, the phenolic profile is similar among all varieties. However, some variations in the phenolic content were detected between samples (Fig. 1B,C). The traditional Portuguese variety, together with Lapin, Ulster and Van were the ones that presented the highest total phenolic and anthocyanin content. Among the four, Saco cherry demonstrated to be the richest source of neochlorogenic acid, quercetin-3-glucoside and pelargonidin and peonidin glycosides. On the other hand, the other traditional variety Morangão and the exotic cultivar Summit exhibited the lowest content in polyphenols including anthocyanins (Fig. 1).

Aiming to evaluate if the difference observed in the phenolic content affects the bioactivity of cherries, the nine samples were analysed for their antioxidant capacity using several cell free and cell based assays (Fig. 2), and antiproliferative effect on human colon and gastric cancer cells (Fig. 4).



B



C

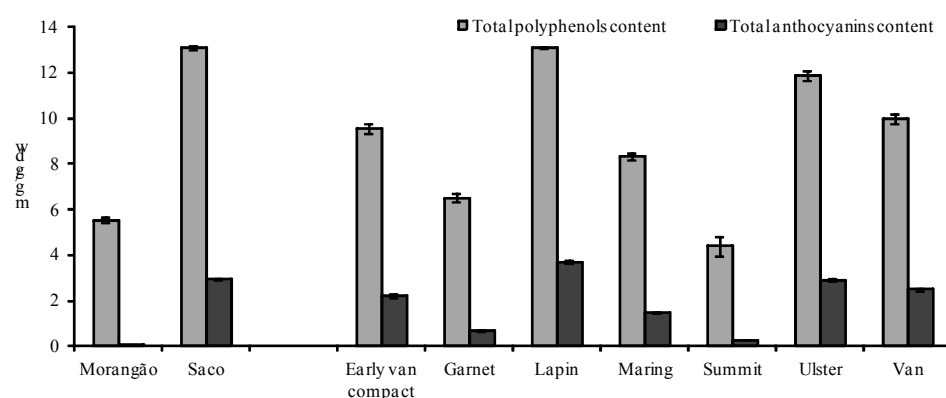


Figure 1. Phenolic analysis of Portuguese traditional and exotic sweet cherry extracts. **A-** HPLC profiles at 280nm (extracts concentration- 0.2 g/mL). **B-** Phenolic quantification. **C-** Total polyphenols and anthocyanins content of nine sweet cherry varieties, measured by spectrophotometric assays;

Legend: 1-p-coumaroylquinic acid (pCqAc); 2- neochlorogenic acid (NcAc); 3- catechin (Cat); 4- chlorogenic acid(CAc); 5- epicatechin (Ep); 6- cyanidin-3-glucoside (C3g); 7- cyanidin-3-rutinoside (C3r); 8- pelargonidin-3-rutinoside + peonidin-3-glucoside (Pl3r+Pn3g); 9- peonidin-3-rutinoside (P3r); 10- rutin (Rut); 11- quercetin-3-glucoside (Q3g) (Mo, Morangão; Sc, Saco; EVC, Early Van Compact; Gn, Garnet; Lp, Lapin; Ma, Maring; Sm, Summit; Ul, Ulster).

Madrid 201

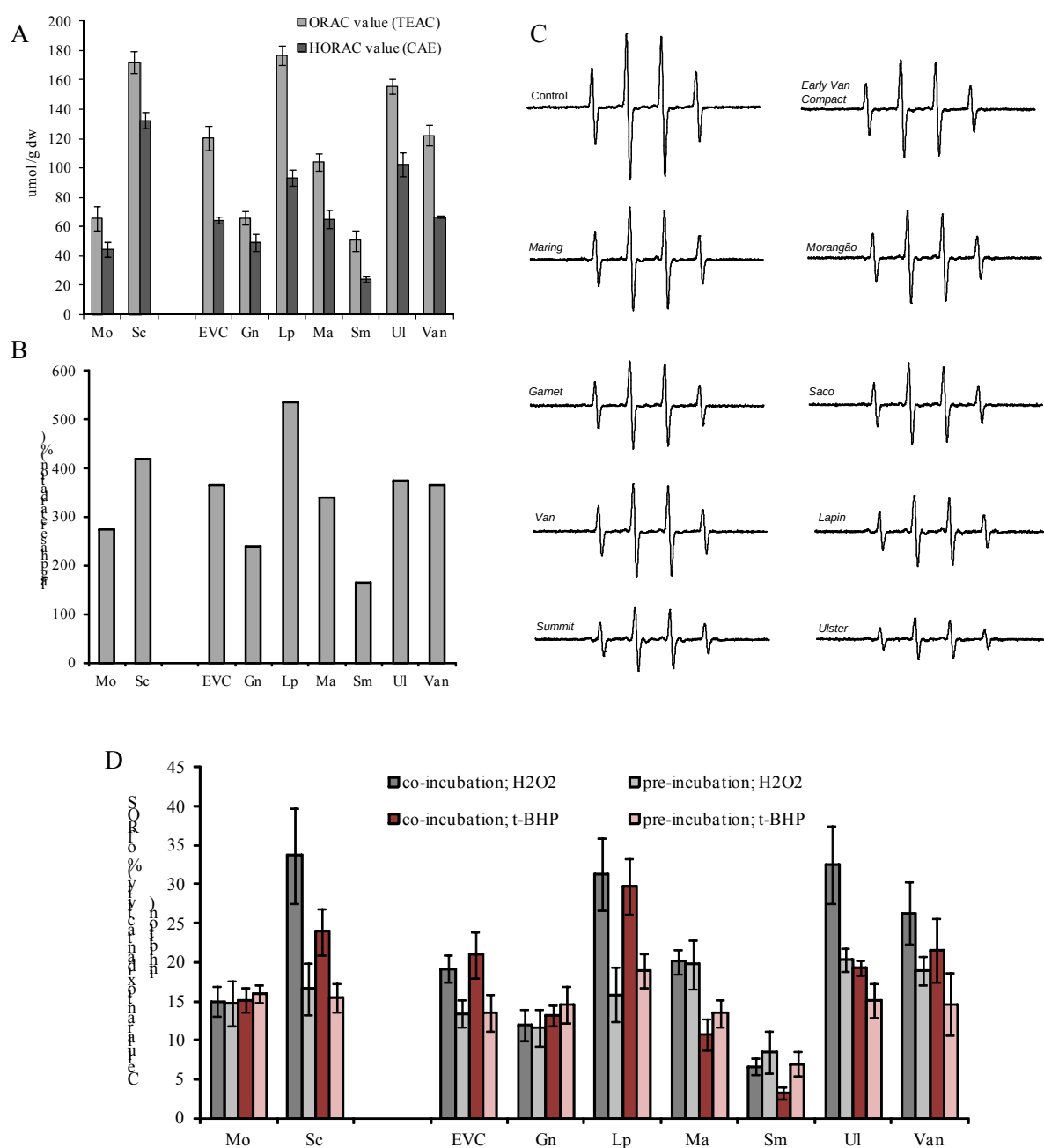


Figure 3. Antioxidant activity of nine cherry varieties. A- ORAC and HORAC values; B- Inhibition of LDL oxidation; C- EPR spectra of samples; D- Cellular antioxidant activity on Caco2. Pre- and co-incubation with chemical stressors (t-BHP and H2O2)

Due to the large amount of data, PCA was applied in order to distinguished cherry varieties according to their biological effect. Results obtained showed that the nine cherries could be divided in four main groups: Group 1- Saco and Lapin; Group 2- Ulster; Group 3- Early Van Compact, Maring and Van; and Group 4- Morangão, Garnet and Summit.

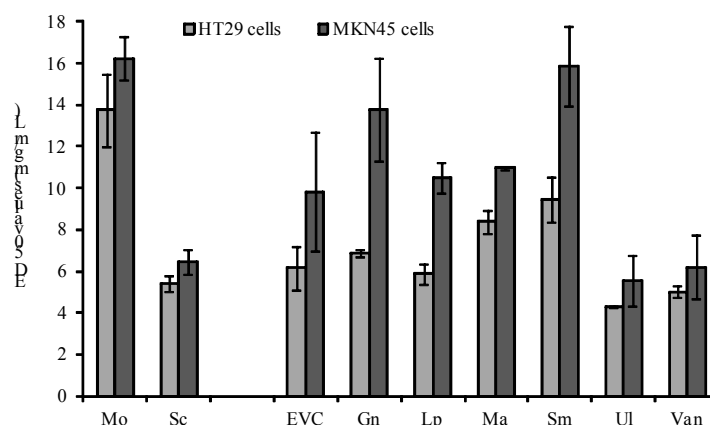


Figure 4. Antiproliferative effect of nine Portuguese cherry varieties (ED50 values).

The first two groups contain the cherry varieties with the highest concentration in phenolic compounds and best results of antioxidant activity. In particular, cherries of Group 1, namely Saco and Lapin varieties, exhibited the highest ORAC and HORAC values and were the most effective in inhibiting human LDL oxidation whereas the cherry of Group 2 (Ulster) presented the highest scavenging activity of hydroxyl radical by effectively reducing EPR spectrum (Fig. 3C). Additionally, the powerful antiproliferative effect of Ulster contributed to distinguish this variety from the others. As shown in Figure 4, Ulster exhibited the highest antiproliferative effect (lowest ED50 values) followed by Saco and Van varieties. Moreover, the cherries of Groups 1 and 2 distinguished from the others due to their higher content in phenolic compounds and cellular antioxidant activity obtained in both co- and pre-incubation assays. Samples of group 3 include the cherry varieties with moderate phenolic content, antioxidant and antiproliferative activities. Finally, the three cherry varieties included in Group 4 were the ones that presented the lowest phenolic content and biological activity.

In an effort to understand which phenolic compounds are responsible for the antioxidant and antiproliferative effect of cherries, correlations were performed between samples' composition and bioactive response. High correlation coefficients ($r > 0.8$) were obtained between the total polyphenols and anthocyanin concentration with antioxidant capacity and antiproliferative results (ED50 values). Among all compounds, the best results were achieved between chlorogenic acid and quercetin-3-glucoside with ORAC ($r > 0.87$), HORAC ($r > 0.84$) and LDL oxidation ($r = 0.82$) assays, peonidin-3-rutinoside with inhibition of LDL oxidation ($R = 0.87$), p-coumaroylquinic acid with samples' scavenging capacity of hydroxyl radicals measured by EPR assay ($r = 0.85$), and cyaniding-3-rutinoside with antiproliferative results ($r > 0.85$). Some of these relationships were according with previous studies on cherries (Picollella *et al.*, 2008; Kyraeosyan *et al.*, 2009; Wang and Stoner, 2008).

CONCLUSION

The study reported herein describes the antioxidant activity and antiproliferative effect towards human cancer cells of two traditional Portuguese sweet cherry varieties and seven exotic cultivars. The results obtained pointed out Saco variety as a rich source of bioactive compounds with higher antioxidant activity and antiproliferative effect in human cancer cells. This traditional variety together with Ulster and Lapin can be considered as promising functional foods for human health applications.

REFERENCES

- Blando, F., Gerardi, C., Nicoletti, I. 2004. Sour Cherry (*Prunus cerasus* L) Anthocyanins as Ingredients for Functional Foods. J. Biomed. Biotechnol 2004, 253-258.
- Gao, M., Mazza, G. 1995. Characterization, quantification and distribution of anthocyanins and colourless phenolics in sweet cherry. J. Agric. Food. Chem. 43, 343-346.
- Gonçalves, B., Landbo, A.K., Knudsen, D., Silva, A.P., Moutinho-Pereira, J., Rosa, E., Meyer, A.S. 2004a. Effect of ripeness and postharvest storage on the phenolic profiles of Cherries (*Prunus avium* L.). J. Agric. Food Chem. 52, 523-530.
- Gonçalves, B., Landbo, A.K., Let, M.D., Silva, A.P., Pereira, J.M., Rosa, E., Meyer, A.S. 2004b. Storage affects the polyphenolic profiles and antioxidant activities of cherries (*Prunus avium* L) on human low-density lipoproteins. J. Sci. Food Agric. 84, 1013-1020.
- Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., Prior, R.L. 2002. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. J. Agric. Food Chem. 50, 4437-4444.
- Mattila, P., Hellstroom, J., Torronen, R. 2006. Phenolic acids in berries, fruits and beverages. J. Agric. Food Chem. 24, 7193-7199.
- Kyrakosyan, A., Seymour, E.M., Llanes, D.E.U., Kaufman, P.B., Bolling, S.F. 2009. Chemical profile and antioxidant capacities of tart cherry products. Food Chem. 115, 20-25.
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J., Deemer, E.K., Prior, R.L., Huang, D. 2002. Novel fluorometric assay for hydroxyl radical prevention capacity using fluorescein as the probe. J. Agric. Food. Chem. 50, 2772-2777.
- Piccolella, S., Fiorentino, A., Pacifico, S., D'Abrosca, B., Uzzo, P., Monaco, P. 2008. Antioxidant properties of sour cherries (*Prunus cerasus* L.): role of colorless phytochemicals from the methanolic extract of ripe fruits. J Agric. Food Chem. 56, 1928-1935.
- Serra, A. T., Matias, A.A., Frade, R.F.M., Duarte, R.O., Feliciano, R.P., Bronze, M.R., Figueira, M.E., de Carvalho, A., Duarte C.M.M. 2010. Characterization of

Madrid 201

- traditional and exotic apple varieties from Portugal. Part 2- Antioxidant and antiproliferative activities. *J. Funct. Food.* 2, 46-53.
- Serra, A.T. 2010. Valorization of traditional Portuguese apples and cherries- Biochemical characterization and development of functional ingredients. PhD thesis.
- Serrano, M., Guillen, F., Martinez-Romero, D., Castillo, S., Valero, D. 2005. Chemical constituents and antioxidant activity of sweet cherry at different ripening stages. *J. Agric. Food Chem.* 53, 2741-2745.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144-158.
- Usenik, V., Fabcic, J., Stampar, F. 2008. Sugar, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chem.*, 107, 185-192.
- Wang, L.S., Stoner, G.D. 2008. Anthocyanins and their role in cancer prevention. *Cancer Lett.* 269, 281-290.
- Wroslstad, R.E. 2000. Current Protocols in Food Analytical Chemistry, unit F1.2.
- Zhang, Y., Vareed, S.K., Nair, M. Vareed, & Nair, 2005. Human tumor cell growth inhibition by nontoxic anthocyanins, the pigments in fruits and vegetables. *Life Sc.* 76, 1465-1472.

Madrid 201

IV. Postharvest Management, Processing and Added-Value.

IV. Manejo Post-recolección, Procesado y Valor Añadido.

Madrid 2012

OPTIMIZING HANDLING FOR SUPERIOR FRESH MARKET QUALITY OF SWEET CHERRIES AND POTENTIAL VALUE-ADDED PRODUCT.

Toivonen, P.M.A.

Pacific Agri-Food Research Centre, Summerland, British Columbia, Canada V0H 1Z0

Email: peter.toivonen@agr.gc.ca

Abstract

Sweet cherries are a very perishable product having a very lucrative market. The challenge is to consistently harvest, handle, pack and ship sweet cherries so that they arrive at markets in optimal condition. There are a number of defects which can affect sweet cherry quality, including; pitting, loose stems, brown stems, and flesh softening. All of these defects can be minimized through prescribed strategies beginning in the field where poor harvest practice can lead to significant claims because of excessive pitting and/or brown stems. Packing house operation and logistical linkage of the packing operations to harvest are critical issues. Efficient operations are characterized with cooling and packing of the fruit on the day that it is harvested. Packing lines can contribute to injury and pitting of the fruit, especially at poorly designed transition points. The most critical operation is that of final, post-pack cooling of cherries. An efficient packing line equipped with a good hydro-cooler can reduce cherry core temperature to 3-5 °C. However, it is essential to cool the fruit to 0-1 °C for all fruit, whether they are marketed within 3-5 days or shipped by container for 3 weeks or longer. An emerging concern in the sweet cherry industry is the utilization of unsalable fruit having excellent internal quality (i.e. not culls). Research has shown that sweet cherries having lost stems or having minor cracks can be converted to high quality and high value fresh-cut product. The presentation will show recent research results which provide science-based evidence to guide industry practice in harvest, handling, packing and shipping of sweet cherries.

Keywords: Sweet cherry, container shipping, air shipping, harvest, handling, fresh-cut.

THE PROBLEM

The challenge for shipping sweet cherries short and long distances is to understand what factor or factors are limiting the quality and shelf life of the cherry. While there are numerous innovations and technologies that promise potential improvement in sweet cherry quality and nutritional value, if a limiting factor exists those innovations and technologies will likely not achieve the expected results in industry practice. Therefore it was important to first determine the factors limiting sweet cherry quality from harvest to packing and resolve these limitations before introducing new technologies or innovations to industry.

FRUIT QUALITY

Fruit quality on the tree is extremely important to postharvest shipping quality. Beyond good fertilization and irrigation, it is become clear to us that canopy management to optimize light and air infiltration. In preliminary work that we have performed in

Madrid 2012

commercial orchards, those orchards have good canopy management (30-40% full light infiltration) have consistently good quality fruit having both high soluble solids content and greater firmness over different growing seasons (Figure 1). However, orchards with poor canopy management (dense, dark canopies) have low sugar and high percentage of soft fruit in years where weather has been rainy, dull and cool (Figure 1). Therefore a prerequisite of good response to technology or innovative postharvest treatments by sweet cherries is that their initial quality be managed such that crop quality is more stable from season to season.

Another benefit of good canopy management is that the good air circulation reduces the disease pressure. As a consequence sweet cherries from a well-managed orchard have few disease problems in the package and during shipping.

STEM QUALITY

While it is the cherry fruit which is eaten by the consumer, stem quality is considered to be the indicator of freshness (quality) of the cherry in the market place. Initial evaluations of sweet cherry harvests in British Columbia determined that stem browning was a significant problem which could not be reversed by postharvest treatments or packaging. As a consequence, a means to protect stem quality needed to be developed. A simple solution was found, a reflective tarp material to cover the fruit immediately after harvest. This tarp consists of a silvered mylar under layer, an outer white coating with a core consisting of woven polyethylene tarp material. Tests of this tarp demonstrated that it keeps fruit and stems from heating up in the orchard and during delivery to the packing house and also keeps humidity around the fruit and stems at nearly 100 % (Schick and Toivonen, 2002). Implementation of the use of this tarp during harvest has virtually eliminated stem browning and shrivelling in BC marketed cherries.

FRUIT IMPACT BRUISING

Impact bruises are not visually evident at the time of packing, but develop over time in packaging. Unfortunately, there has been no innovation in packaging or coatings that has been shown to reduce the development of pits that develop in response impacts that occur in harvest and packing operations. Therefore it is important to work on understanding where the injuries occur (Toivonen et al., 2010). An evaluation of the harvest and packing operations of several packing houses revealed that half the bruising could be attributed to the picking operation and that proper picker training could almost eliminate harvest-associated picking (Toivonen et al., 2010). Similar results were obtained with proper modifications in packing lines (Toivonen et al., 2010).

COOLING

Proper cooling is essential to optimizing the shipping potential and quality of sweet cherries in the market. While many understand the benefits of good cooling, logistics for

Madrid 2012

moving fruit from harvest to the packing house and then the cooler is less well understood. It is important to stress that cooling fruit as rapidly as possible will ensure the best quality outcome at the market.

Hydro-cooling can only be relied upon to reduce sweet cherry temperature to 2-3 °C if the hydro-cooler operation is optimal. Often during the main season, fruit temperature after hydro-cooling is at 5-6 °C since the volume of fruit going through the hydro-cooler exceeds the hydro-cooler capacity. The problem is worse if the ambient temperatures are high. What are the consequences of inadequate cooling? First, the fruit will respire at higher rates than may be specified for modified atmosphere packaging or for a coating material. The result is over-modification of the atmosphere surrounding the cherry, and off-flavors can result. The second issue is that warmer fruit become soft, cold fruit become firmer during shipping. Good firmness is essential to marketing. Finally, warm fruit develop decay much more quickly than cold fruit. We have conducted extensive studies and have found that cooling sweet cherries to 0 °C results in the best quality for cherries whether they are marketed within one week or if they are transported for four weeks before marketing.

Unfortunately, the cherry industries have first developed focusing on short distance or air shipping. As a consequence the design and capacity of the packing and cooling facilities have been relatively small. Secondary or post-packing cooling has not been designed into many facilities. Therefore, an evolution must occur in the capacity to accomplish secondary cooling in order to improve quality and allow benefits of technologies such innovative packaging and/or coating to become evident.

THE FUTURE

New cultivars of cherries, especially those that are large in size and firmness, provide new opportunities to improve long distance shipping potential. We have conducted numerous studies on new cultivars deriving from the Summerland Sweet Cherry Breeding Program and are beginning to identify characteristics that make sweet cherries optimal for long distance shipping (Kappel et al., 2002&2006; Toivonen et al., 2004; Toivonen and Hampson, 2012). ‘Sweetheart’ and ‘Staccato’ have probably the most stable and optimal shipping potential of the cultivars grown in British Columbia. New cultivars are currently being analyzed for long distance shipping characteristics. In addition to fruit acidity, size and firmness, the stem quality characteristics, including stem attachment strength are being assessed.

Once limiting factors to cherry quality and storage potential are resolved, additional benefits of innovative packaging and/or coating technologies may provide a new level of quality in the market place.

OPTIONS FOR CULL CHERRIES

Another opportunity has developed with the sweet cherry industry in that as the industry has grown, cull fruit having good internal quality is increasing volume. Much cull

Madrid 2012

fruit in BC is of good internal quality and free from decay, but is either too small or has defects unacceptable for marketing (e.g. nose cracks, fruit with no stems attached, etc).

We have explored the potential to develop a fresh-cut cherry product with great success (Toivonen et al., 2006). Many cultivars, but not all are acceptable for fresh-cut product (Figure 2). Collaboration with local culinary chefs has determined many possible uses for fresh-cut cherry use (Figure 3). However the one aspect missing is that of a commercial machine to produce the fresh-cut cherry. Until commercial equipment is developed, it is not likely that a fresh-cut cherry will be commercialized.

Lastly a local British Columbia producer has developed a proprietary process to produce a non-oxidized, concentrated cherry juice and a reduction sauce. These two products have become very popular with a rapidly increasing market place at high-value culinary stores. The company, Table Tree, has recently received the Best Pure Juice Product from the World Juice Awards held at Barcelona in October 2012. Clearly there is opportunities to make use of sound culls for a profitable value-added product.

SUMMARY

Managing quality of sweet cherry fruit is an essential prerequisite to achieve optimal quality at market. In addition, until the production, harvest and packing operations are optimized, benefits to implementation of new packaging technologies or innovative coating cannot be realized. Therefore it is important to work at optimizing all limiting factors during technology transfer to industry.

As the industry grows and expands, secondary uses for cull or lower value grades of sweet cherry must be developed. Both fresh-cut and high quality juice products can help provide these secondary uses. There are likely many other secondary uses to develop as well, including extractions of bio-actives for the nutraceutical and pharmaceutical industries.

REFERENCES

- Kappel, F., P. Toivonen, S. Stan & D.-L. McKenzie. 2006. Resistance of Sweet Cherry Cultivars to Fruit Surface Pitting. *Canadian Journal of Plant Science* 86: 1197-1202.
- Schick, J. and P.M.A. Toivonen 2002. Reflective tarps at harvest reduce stem browning and improve fruit quality of cherries during subsequent storage. *Postharvest Biology and Technology* 25:117-121.
- Toivonen, P.M.A. and C.R. Hampson. 2012. Phenotypic analysis of new sweet cherry and apple cultivars based on postharvest characteristics. *Acta Horticulturae* 945: 219-225.
- Kappel, F., P. Toivonen, D.-L. McKenzie, and S. Stan. 2002. Storage characteristics of new sweet cherry cultivars. *HortScience* 37(1):139-143.

Madrid 2012

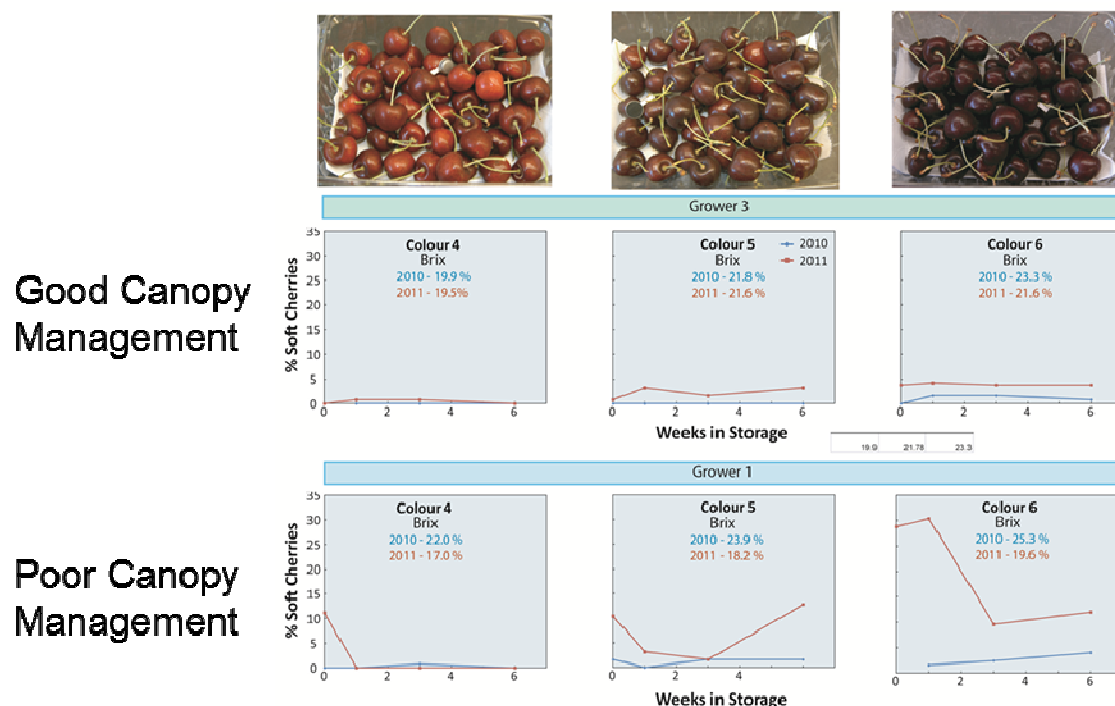
Toivonen, P.M.A., F. Kappel, S. Stan, D.-L. McKenzie, and R. Hocking. 2004. Firmness, respiration and weight loss of 'Bing', 'Lapins', and 'Sweetheart' cherries in relation to fruit maturity and susceptibility to surface pitting. *HortScience* 39: 1066-1069.

Toivonen, P.M.A., F. Kappel, S. Stan, D.-L. McKenzie and R. Hocking. 2006. Factors affecting the quality of a novel fresh-cut sweet cherry product. *Food Science and Technology/LWT* 39: 240–246.

Toivonen, P.M.A., F. Kappel, B. Lannard, D.-L. McKenzie & K. Lund. 2010. *Manual for Managing Quality of Sweet Cherries from Harvest to Sale*, 78 pp.

Figures

Figure 1. Soluble solids and percentage of soft fruit for Sweetheart cherries harvested from an orchard having good canopy management and one having poor canopy management over two years. The weather in 2010 was sunny and hot whereas the weather in 2011 was dull, cool and rainy. Higher numbers of soft fruit were associated with more mature cherries from the poorly managed orchard in the dull and cool year (2011).



Madrid 2012

Figure 2. Percent acceptable fresh-cut cherries from nine cultivars tested over 21 days storage at 1 °C. Note that SH represents the Sweetheart cultivar. Fresh-cut cherries were made by removing the core and pit of the fruit with a sharpened stainless tube cutter. Cut fruit was washed in chlorinated water and placed in polystyrene clamshells which were wrapped in a highly permeable plastic film.

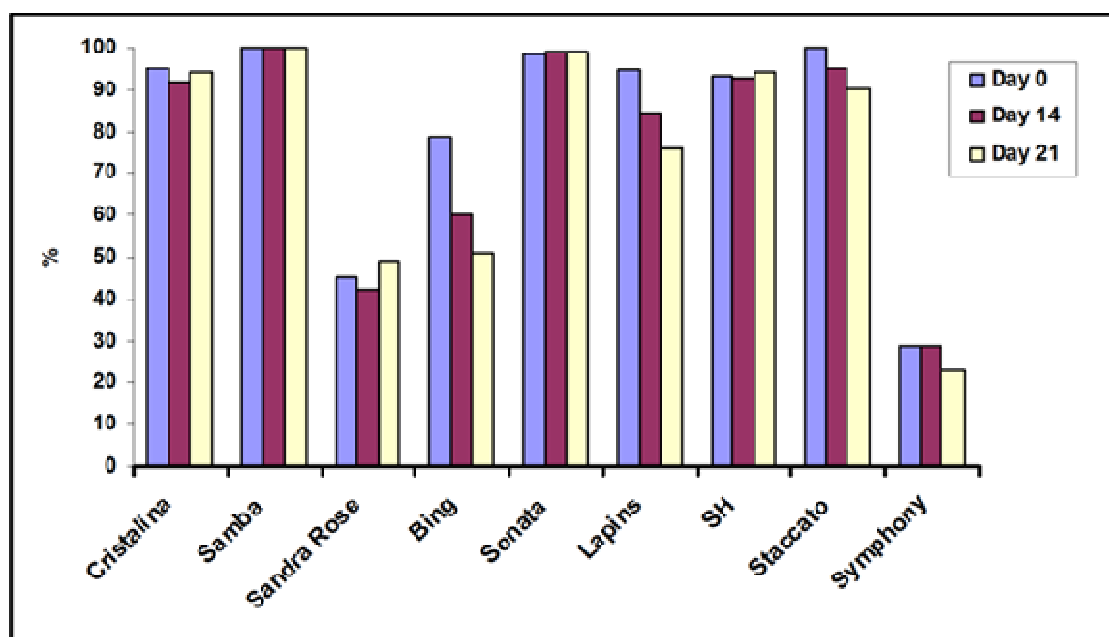
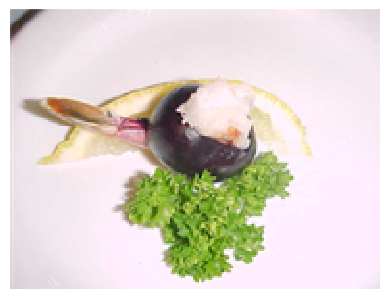
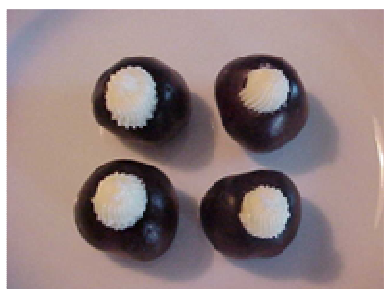


Figure 3. Examples of fresh-cut cherries (bottom centre) and culinary chef uses of fresh-cut cherries in canapés involving chocolate and cream cheese (left), savory meat and cheese (centre) and with shrimp (right).



EDIBLE COATINGS BASED ON HYDROXYPROPYLCELLULOSE FOR PLUM POSTHARVEST PRESERVATION

Pérez-Gago M. B.

Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias-Fundación AGROALIMED. 46113 Moncada, Valencia. SPAIN. e-mail: perez_mbe@gva.es

Abstract

Plums are climacteric fruits, which are suitable for cold storage for a short period depending on the susceptibility to internal breakdown and loss in texture. Application of edible coatings to fruits is a simple technology that allows reduction in fruit moisture loss and permits regulation of respiration as a passive modified atmosphere packaging. Cellulose is the most abundantly occurring natural polymer on earth with excellent film forming properties. Among the different cellulose derivatives, hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) yields films that are flexible, odorless, tasteless, water soluble, and resistant to oils and fats, and present good oxygen and aroma barrier properties. However, it needs the addition of lipid components to improve moisture barrier. In plums, optimized HPMC-lipid coatings have shown the potential to extend fruit shelf life. The effectiveness of these coatings depends on fruit cultivar, as well as the type and content of the ingredients. Results showed that as lipid content increased plum weight loss decreased; whereas, as HPMC content increased chilling injury and firmness loss decreased as consequence of the greater gas barrier of the coatings. Optimum type and concentration of plasticizer and fatty acid were related with a greater flexibility of the coating that could improve its integrity during storage, and the coating ability to reduce fruit respiration. The main benefit of optimized HPMC-lipid coatings on plums cv. 'Angeleno' and 'Autumn Giant' was the reduction of internal physiological disorders, extending shelf life of the fruit under prolonged storage at 20 °C.

Keywords: Edible coatings, internal breakdown, shelf life, Angeleno, Autumn Giant

INTRODUCTION

Plums are climacteric fruits, which are suitable for cold storage for a short period depending on the susceptibility to internal breakdown and loss in texture. The market life varies among cultivars from 1 to 8 weeks and it is affected by temperature management. Maximum market life is obtained when fruits are stored at approximately 0 °C and the minimum postharvest life occurs when stored around 5 °C (Crisosto et al., 1999). Some cultivars have observed an improvement in postharvest life by the use of modified atmosphere or controlled atmosphere in combination with temperatures close to 0 °C. The major benefits of controlled atmosphere during storage are retention of fruit firmness and ground color. Conditions of 6% O₂ and 17% CO₂ are suggested for reduction of internal breakdown, but its effectiveness depends on cultivar, preharvest factors, market life, and storage time (Crisosto et al., 2002).

The practice of applying coatings for the preservation of intact fruits and vegetables has been used since ancient times to replace the natural waxes that are generally removed during washing. Commercial coatings applied mainly to citrus and other fruits, such as apples, pears, melon, mangoes, papaya etc. are anionic

microemulsions, typically containing resins and/or waxes such as shellac, wood rosin, candelilla wax, carnauba wax, beeswax, polyethylene, and petroleum-derived waxes (Palou et al., 2011).

Consumer interest in health, nutrition, and food safety combined with environmental concerns has renewed efforts in the development of new coating formulations that avoid the use of synthetic components used in commercial waxes, such as polyethylene wax, and the use of ammonia or morpholine in the formulations; as well as to find new formulations for those fruits where legislation do not approve the use of these ingredients. Development of natural edible coatings represent an environmentally friendly postharvest technique for fresh fruit preservation, because they are biodegradable and can be consumed with the coated fruit if desired, therefore avoiding waste disposal. Edible fruit coatings are made with food-grade ingredients, generally regarded as safe (GRAS) for human consumption.

The main function of edible films and coatings is to offer a protective barrier to moisture, oxygen, flavor, aroma, etc., between the food and the environment. Additionally, edible films and coatings may act as carriers of food ingredients and help improving the handling characteristics of the food. Therefore, application of edible coatings to fruits is a simple technology that allows reduction in fruit weight loss and permits regulation of respiration as a passive modified atmosphere packaging. In addition, coatings can also act as carriers for food additives to control mold growth, improve fruit gloss, improve nutritional quality, etc. The principal disadvantage, however, is the development of off-flavors if the barrier to O₂ and CO₂ exchange results in anaerobic respiration (Krochta, 1997).

Major components of edible coatings include proteins, polysaccharides, and lipids. They present advantages and disadvantages when used as coating ingredients. Generally, lipids offer a good moisture barrier due to their hydrophobic nature, reducing water loss, shriveling and shrinkage of coated fruit. However, their non-polymeric nature limits their ability to form cohesive films. Proteins and polysaccharides are good film-formers and present an intermediate oxygen barrier between lipid and resin coatings at medium-high RH, which helps controlling the gas exchange between the fruit and the environment reducing the appearance of off-flavor compared to commercial waxes (Baldwin and Baker, 2002). However, their hydrophilic nature makes them poor moisture barriers. For this reason, most natural coatings for fruits contain a combination of ingredients forming what is called “edible composite coatings”. Several other compounds such as plasticizers and emulsifiers may be added to the formulations to improve coating integrity and form stable emulsions when lipids and hydrocolloids are combined (Pérez-Gago et al., 2010).

Among polymeric materials, cellulose is the most abundantly occurring natural polymer on earth with excellent film forming properties (Bravin et al., 2004). However, native cellulose is insoluble in water due to the high level of intramolecular hydrogen bonding in the cellulose polymer. The usefulness of cellulose to form edible films and coatings can be extended by the use of different cellulose derivatives. Among them, hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) yields films that are flexible, odorless, tasteless, water soluble, and resistant to oils and fats (Greener-Donhowe and Fennema, 1986), and present good oxygen and aroma barrier properties (Miller and Krochta,

1997). However, their hydrophilic nature makes necessary the addition of lipid components to improve moisture barrier.

The barrier and mechanical properties of edible films and coatings depend on the chemical composition and structure of the film-forming polymer, the nature and amount of the rest of the ingredients, and the conditions of storage. Many studies have focused on elucidating how composition, preparation, and storage conditions affect the properties of standing-alone films (Guilbert 1986; Krochta and De Mulder-Johnston, 1997; Debeaufort et al., 1998; Valencia-Chamorro et al., 2011). This knowledge is required to better understand the transfer mechanisms of gases and solutes through these edible materials. However, coating performance should be also analyzed when formulations are applied on the fruit, because additional factors, such as skin morphology and physiology of the fruit commodity, are also important controlling mass transfer of coated fruit. This work presents the steps in the optimization process of HPMC-lipid edible coatings to extend the shelf life of plums, studying the effect of lipid, emulsifier and plasticizer type and content on postharvest quality.

Effect of lipid type and content of HPMC-lipid composite coatings on postharvest quality of plums.

HPMC-based coatings formulated with either beeswax (BW) or shellac, at 2 lipid content levels (20% and 60% dry basis, db), were studied in ‘Autumn Giant’ plums during storage at 1°C, followed by 3 days at 6°C, simulating transport conditions, and 1 additional day at 20 °C, simulating retail handling (Pérez-Gago et al., 2003). No differences on weight loss were observed between uncoated and 20% lipid-coated plums, which indicates that the diffusion resistance of the natural wax layer exerted a moisture barrier comparable to the coatings containing 20% lipid (db). Whereas, weight loss of coated plums was reduced by the coatings containing 60% lipid (db), with no differences between BW or shellac after 6 weeks of storage at 1 °C at that concentration. Fruit texture was not affected by the coatings after short-term storage at 20 °C. However, for prolonged storage at 20 °C, the coatings significantly reduced texture loss and internal breakdown compared to uncoated and water-dipped plums. At these storage conditions, uncoated and water-dipped plums were very soft, reaching levels considered unmarketable, whereas coated plums showed significantly higher firmness levels. The effect of the coatings on fruit firmness and internal breakdown could be attributed to the beneficial effects of atmospheres with low O₂ and/or high CO₂ content on reducing softening. In fact, these coatings were effective creating an internal modified atmosphere as could be seen by the higher ethanol content of coated plums compared to uncoated and water-dipped fruit.

In ‘Angeleno’ plums, HPMC-BW edible coatings reduced plum weight loss compared to HPMC coatings with no BW (Navarro-Tarazaga et al., 2011). Plum weight loss decreased as BW content increased from 20 to 40% (db), but above 40% BW content, weight loss was not further reduced. These results contrast with the moisture barrier properties of stand-alone films, where an increase of BW from 40 to 60% (db) significantly reduced WVP. As observed in ‘Autumn Giant’ plums, the coatings reduced plum softening and bleeding, with those with lower BW content being more effective. The greater ability of HPMC coatings with low BW content to maintain plum

Madrid 2012

firmness might be attributed to their higher capacity to modify fruit internal atmosphere, which translated in higher ethanol content (Fig. 1). Therefore, HPMC-BW coatings containing 20% (db) would provide the best compromise to extend shelf-life of ‘Angeleno’ plums, by reducing plum weight loss, flesh softening and internal breakdown, without affecting the sensory quality of the fruit.

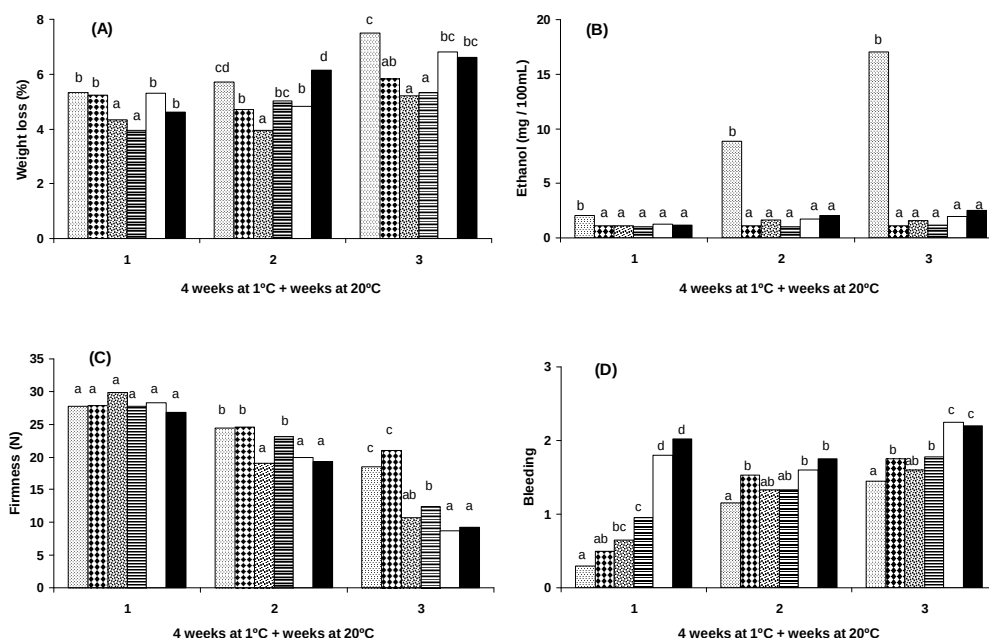


Figure 1. Weight loss (A), ethanol content in juice (B), firmness (C) and bleeding (D) of ‘Angeleno’ plums, uncoated (■), water dipped (□), or coated with hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)-based coatings containing 0 (▤), 20 (◆), 40 (▨) and 60 (▧) % of beeswax (BW). Bleeding was rated as 1= slight, 2= moderate, 3= severe. Within each storage time, means with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$).

Effect of plasticizer type and amount of HPMC-BW composite coatings on postharvest quality of plums.

It has been shown that film polymer cohesion, as a result of polymer chain to chain interactions, affects barrier and mechanical properties of stand-alone edible films. To overcome this limitation, food-grade plasticizers are added to film and coating formulations. Plasticizers are low molecular weight agents (e.g. sucrose, glycerol, sorbitol, propylene glycol, polyethylene glycol, fatty acids, and monoglycerides) that are incorporated into formulations to decrease the intermolecular forces between polymer chains, which results in improved coating integrity. However, reduction of polymer-polymer interaction results in an increase in gas, water vapor, and solute permeability affecting film functionality (Krochta, 1997).

Plasticizer selection is normally based on compatibility between plasticizer and polymer, permanence in the formed film and efficiency in terms of the amount necessary to plasticize films. Good compatibility results from the plasticizer and

Madrid 2012

polymer having a similar chemical structure. Therefore, different polymers require different plasticizers. For polysaccharide-based edible films, hydrophilic plasticizers containing hydroxyl groups, such as glycerol, sorbitol, manitol, polyethylene glycol, etc., that form hydrogen bonds with polysaccharides, are the best suited for this use (Sothornvit and Krochta, 2005).

In an attempt to determine the effect of plasticizer on the performance of HPMC-BW edible coatings, glycerol (G) and mannitol (M) were tested at two different plasticizer:HPMC ratios (100:1 and 300:1 molar basis). The HPMC-BW edible coatings were formulated with 20 or 40% BW content (db) and applied to ‘Angeleno’ plums (Navarro-Tarazaga et al., 2008a). BW content was the main factor affecting ethanol and acetaldehyde content, flesh firmness and bleeding during storage, confirming previous results (Fig. 2). Depending on coating composition, texture loss was reduced up to 75% with respect to the control. Although, plasticizer type did not affect plum firmness, plasticizer content showed a significant effect. Generally, coatings with low plasticizer content were more effective maintaining plum firmness, which was related with the improvement on HPMC polymer cohesion and gas barrier properties, as observed in ethanol and acetaldehyde results. At 20% BW content, ‘Angeleno’ plums coated with G showed the highest levels of ethanol and acetaldehyde, however sensory quality of the fruit was not negatively affected. This result could be related with a greater flexibility of this film that could improve coating integrity in the fruit. In general, formulations with 20%BW and G provided the best compromise in terms of maintaining fruit quality, since these coatings presented a better integrity, retained plum firmness and reduced bleeding without affecting fruit flavor.

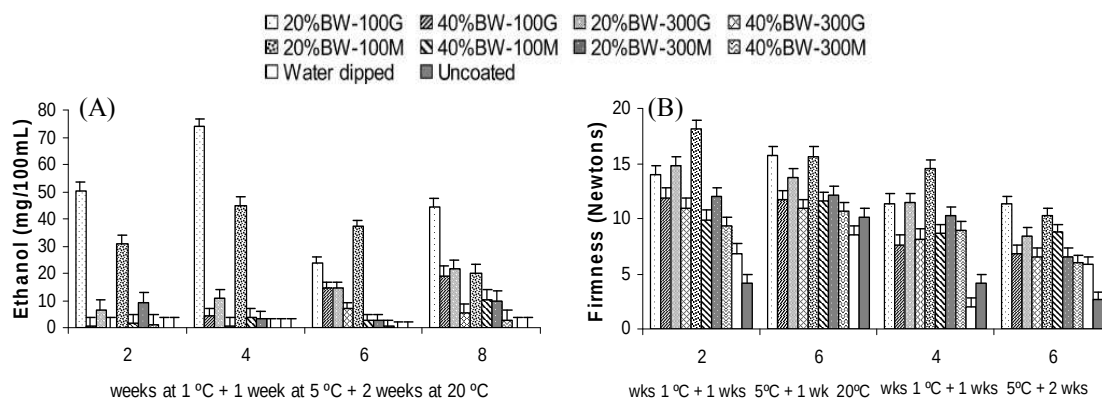


Figure 2. Ethanol content in juice (A) and firmness (B) of ‘Angeleno’ plums coated and uncoated with HPMC-BW edible coatings: Effect of plasticizer type and amount. Within each storage time, means with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$).

Effect of emulsifier type and amount of HPMC-BW composite coatings on postharvest quality of plums.

Emulsifiers or surfactants are surface-active agents of amphiphilic nature (e.g. fatty acids, ethylene glycol monostearate, glycerol monostearate, esters of fatty acids, lecithin, sucrose ester and sorbitan monostearate or polysorbates (tweens)) that interact at the water-lipid interface, reducing surface tension between the dispersed and continuous phases, improving the stability of the emulsion when lipids and hydrocolloids are combined (Han and Gennadios, 2005). In many cases, they are also used to ensure good surface wetting, spreading, and adhesion of the coating to the food surface.

For many fruit coatings, fatty acids (FAs) such as stearic, palmitic, or oleic, are often used as emulsifiers. In addition, long chain and saturated FAs have also been used in different cellulose-based films to improve moisture retention, beside reducing brittleness (Park et al., 1994). Considering that FAs can act as emulsifiers and plasticizers and can also improve the moisture barrier of HPMC-BW films and coatings, the effect of FA type and content were studied on postharvest quality of 'Angeleno' plums. Selected FAs were stearic acid (SA), palmitic acid (PA) and oleic acid (OA), using BW:FA ratios of 1:0.5 and 1:0.2 (w/w). OA provided the highest moisture barrier and mechanical properties on stand-alone films. However, postharvest quality of 'Angeleno' plums (weight loss, firmness, internal breakdown, flavor, volatile content) were not affected by the type and content of the FA tested. Only OA improved appearance and gloss of coated plums compared to the rest of the FAs studied. These results contrasted with the effect of similar coatings in 'Ortanique' mandarins, where coatings containing OA provided the best weight loss control and reduced firmness loss, indicating that coating performance not only depends on coating composition but also on the fruit commodity (Navarro-Tarazaga et al., 2008b).

CONCLUSIONS

Optimization of coating composition for each commodity is required to obtain maximum performance of the coatings. In plums, lipid content was the main factor affecting fruit quality, followed by plasticizer type and content; whereas, the fatty acids studied had minimal effect on postharvest quality.

Optimized HPMC-BW edible coatings in combination with low-temperature storage can extend marketability on 'Angeleno' and 'Autumn Giant' plums by reducing water loss, flesh softening and internal disorders, without affecting the sensory quality of the fruit. The application of these coatings were specially effective extending plums shelf life after prolong storage at 20 °C with previous storage at 1 °C and a short storage period at 5 °C, simulating cold storage and transport conditions, respectively. The beneficial effect of HPMC-BW coatings could be attributed to the gas barrier provided by the coatings creating a modified atmosphere in the fruit.

ACKNOWLEDGEMENTS

The results shown in this paper are part of the research supported by the Spanish Ministerio de Ciencia y Tecnología through the project AGL 2002-00560.

BIBLIOGRAPHY

- Baldwin, E.A., Baker, R.A., 2002. Use of proteins in edible coatings for whole and minimally processed fruits and vegetables. In: *Protein-Based Films and Coatings*. Ed. Gennadios, A. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Bravin, B., Peressini, D., Sensidoni, A. 2004. Influence of emulsifier type and content on functional properties of polysaccharide lipidbased edible films. *J. Agric. Food Chem.* 52, 6448-6455.
- Crisosto, C.H., Gordon, F., Zhiguo, J. 1999. Susceptibility to chilling injury of peach, nectarine and plum cultivars grown in California. *HortSci.* 34, 1116-1118.
- Crisosto, C.H., Mitcham, E.J., Kader, A.A. 2002. Plum: Recommendations for maintaining postharvest quality. Davis, CA: University of California, Davis. Available from: <http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Fruit/plum.shtml>.
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J.A., Voilley, A. 1998. Edible films and coatings: Tomorrow's packaging: A review. *Crit. Review Food Sci. & Nutrition.* 38, 299-313.
- Greener-Donhowe, I.K., Fennema, O.R. 1986. Edible films and coatings: A review. *Food Technol.* 40, 47-59.
- Guilbert S. 1986. Technology and application of edible protective films. In: *Food packaging and preservation: Theory and practice*. Ed. Matholouthi M. Elsevier Applied Science Publishing Co., London, UK.
- Han, J.H., Gennadios, A. 2005. Edible films and coatings: A review. In: *Innovations in Food Packaging*. Ed. Han, J.H. Elsevier Academic Press, Amsterdam, Netherlands.
- Krochta, J.M. 1997. Edible composite moisture-barrier films. In: *Packaging yearbook: 1996*. Ed. Blakistone, B. National Food Processors Association. Washington, D.C., U.S.A.
- Krochta, J.M., De Mulder-Johnson, C. 1997. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technol.* 51, 61-72.
- Miller, K.S., Krochta, J.M. 1997. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 8, 228-237.
- Navarro-Tarazaga, M.Ll., Massa, A., Pérez-Gago, M.B. 2011. Effect of beeswax content on hydroxypropyl methylcellulose-based edible film properties and postharvest quality of coated plums (cv. Angeleno). *LWT- Food Sci. Technol.* 44, 2328-2334.
- Navarro-Tarazaga, M.Ll., Sothornvit, R., Pérez-Gago, M.B. 2008a. Effect of plasticizer type and amount on hydroxypropyl methylcellulose-beeswax edible film properties and postharvest quality of coated plums (cv. Angeleno). *J. Agric. Food Chem.* 56, 9502-9509.
- Navarro-Tarazaga, M.Ll., del Río, M.A., Krochta M.A., Pérez-Gago, M.B. 2008b. Effect of fatty acid type and amount on hydroxypropyl methylcellulose-beeswax

- edible film properties and postharvest quality of 'Ortanique' mandarins. *J. Agric. Food Chem.* 56, 10689-10696.
- Palou, L., Smilanick, J.L., Montesinos-Herrero, C., Valencia-Chamorro, S., Pérez-Gago, M.B. 2011. Novel approaches for postharvest preservation of fresh citrus fruits. In: *Citrus Fruits: Properties, Consumption and Nutrition*. Ed. Slaker, D.A. Nova Science Publishers, Inc., New York, U.S.A.
- Park, J.W., Testin, R.F., Park, H.J., Vergano, P.J, Wellwer, C.L. 1994. Fatty acid concentration effect on tensile strength, elongation, and water vapor permeability of laminated edible films. *J. Food Sci.* 59, 916-919.
- Pérez-Gago, M.B., González-Aguilar, G.A., Olivas, G.I. 2010. Edible coatings for fruits and vegetables. *Stewart Postharvest Review.* 3(4), 1-14.
- Pérez-Gago, M.B., Rojas, C., del Río, M.A. 2003. Effect of hydroxypropyl methylcellulose-lipid edible composite coatings on plum (cv. Autumn giant) quality during storage. *J. Food Sci.* 68, 879-883.
- Sothornvit, R., Krochta, J.M. 2005. Plasticizers in edible films and coatings. In: *Innovations in Food Packaging*. Ed. Han, J.H. Elsevier Publishers, New York, U.S.A.
- Valencia-Chamorro, S.A., Palou, L., Pérez-Gago, M.B. 2011. Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables: A review. *Crit. Review Food Sci. & Nutrition.* 51, 872-900 .

Madrid 2012

ACTIVE PACKAGING DEVELOPMENT TO IMPROVE PLUM QUALITY AND MAINTAINING ANTIOXIDANT PROPERTIES

Guillén, F.¹, Valero, D.¹, Zapata, P.J.¹, Serrano, M.², Valverde, J.M.¹, Díaz-Mula, H.M.¹, Castillo, S.¹, Martínez-Romero, D.¹

¹ Dept. Food Technology. ² Dept. Applied Biology. EPSO-University Miguel Hernández. Ctra. Beniel km. 3.2 03312 Orihuela, Alicante, Spain.

Abstract

Plum shows severe problems for commercialisation mainly due to a fast loss of quality. A package has been developed based in the effect of modified atmosphere packaging (MAP) in combination with the addition of a mixture of 3 essential oils (eugenol, thymol, and carvacrol, 25 µL each) inside packages on maintaining 'Black Amber' plum quality. Fruit were thermo-sealed in baskets with 2 distinct films (M and P) which differ in permeability. Fruit stored with macro-perforated film served as control and lost their quality attributes very rapidly manifested by accelerated colour changes and softening. The use of MAP with essential oils retarded these changes. Generally, the efficacy was higher in the fruit packed with film M compared with film P as a result of the delay in the postharvest ripening process, which could be attributed to the effect of MAP on reducing ethylene production rate. In addition, total phenolics and anthocyanins, showed a delay in the accumulation associated with the retardation in the ripening process. In the same way, total carotenoids were maintained at higher levels in plums with both films in comparison with control film. Antioxidant activity was affected by MAP conditions too, showing a positive effect when essential oils were added to the package in this parameter and in the other bioactive compounds studied.

Keywords: *Prunus salicina*, Antioxidant activity, modified atmosphere, polyphenols, fruit quality, storage

INTRODUCTION

In several reports, eugenol, menthol or thymol in combination with MAP maintained general quality and safety by reducing microbial spoilage in fruits like sweet cherry (Serrano et al., 2005).

Modified atmosphere packaging (MAP) has been poorly studied in plums, although recent papers have shown efficacy of MAP in alleviating chilling injury symptoms in 'Friar' plums through reducing softening and browning (Cantín et al., 2008), and in retarding parameters related with ripening, such as dehydration, respiration rate, colour changes, softening, acidity losses and the increase in total soluble solids (Díaz-Mula et al., 2011).

Plums are known to contain large amounts of phytochemicals and are considered a good source of natural antioxidants in our daily diet (Valero and Serrano, 2010). The purpose of this work was to use eugenol, menthol and carvacrol at low concentrations (25 µL each inside the package) and to study the effect of these compounds on plum quality, and bioactive compounds under MAP conditions.

MATERIAL AND METHODS

Plant material and experimental design. Plum fruit (*Prunus salicina* Lindell.) from ‘Black Amber’ picked at the commercial ripening stage according to Díaz-Mula et al. (2008). Once in the laboratory, 384 fruit homogenous in colour, size and with absence of defects, were selected and sorted at random in 48 lots of 8 fruit (three lots were used to analyze the fruit properties at harvest at Day 0). The remained lots were individually placed in polypropylene baskets and divided into 5 batches at random and then thermo-sealed on top with the following films: macro-perforated film as control, film P (high permeability to the oxygen), film M (medium permeability) film P with 75 µL of a mix of essential oils (eugenol, menthol and carvacrol) and film M in which was added this mix too. All baskets were stored at 2°C and 90% RH for 21 days. Baskets were taken after 7, 14 and 21 days, and analytical determinations were made after removing the fruit from MAP and cold storage. For each sampling date and replicate, the peel and flesh for each fruit were sampled, cut into small pieces and divided into 2 subsamples frozen with liquid N₂ and stored at -20°C until the bioactive compounds (phenolics, carotenoids and anthocyanins) and total antioxidant activity (TAA) in both hydrophilic and lipophilic fractions were analyzed.

Analytical determinations. CO₂ and O₂ concentrations were quantified in duplicate in each basket by withdrawal of 1mL of headspace atmosphere using an airtight syringe, and injected into a gas chromatograph GC 14B. The ethylene production was measured when packages were opened and after 2 h ethylene production was measured at cold temperature (2 °C) by placing each replicate of 8 fruit in a 2-L glass jar hermetically sealed with a rubber stopper for 30 min. For ethylene quantification (in duplicate) 1mL of the atmosphere was withdrawn with a gas syringe and then injected into a Shimadzu™ GC-2010 gas chromatograph (Díaz-Mula et al., 2011). Fruit firmness was measured for each fruit, with a force that achieved a 3% deformation. Results were expressed as the force-deformation (Nmm⁻¹) and were the mean ±SE (n = 24). Colour was determined using the CIE Lab System in a Minolta colorimeter CR200 model. The fruit was peeled and a flesh tissue portion was taken along the equatorial fruit zone, in which total soluble solids (TSS) and total acidity (TA) were determined in duplicate. TSS concentration was determined with a digital refractometer Atago PR-101 TA (g of malic acid equivalent per 100 g⁻¹ fresh weight) was determined by automatic titration (785 DMP Titrino, Metrohm). The ratio between soluble solids concentration and titratable acidity was considered as a ripening index (RI). Total antioxidant activity (TAA) was quantified according to the method of Arnao et al., 2001. The method of Tomás-Barberán et al. (2001) was used for total phenolic extraction and quantified using the Folin-Ciocalteu reagent. Anthocyanins were quantified as described in Díaz-Mula et al. (2011). Total carotenoids were estimated in the lipophilic extract (Arnao et al., 2001). Experimental data were subjected to ANOVA analysis. Sources of variation were MAP packages and storage. The overall least significant differences (Fisher’s LSD procedure, p < 0.05) were calculated and used to detect significant differences among packages and storage time. Values of LSD are showed in figures. All analyses were performed with SPSS software package v. 11.0 for Windows (SPSS, 2001).

Madrid 2012

RESULTS AND DISCUSSION

During storage, CO₂ concentrations increased and O₂ concentrations decreased inside the MAP packages and the steady-state atmosphere was reached after 7 days at 2 °C (Fig. 1). The highest atmosphere modification was for plums with film M in which essential oils were added, with CO₂ and O₂ concentrations at equilibrium of ≈ 4.3 and ≈ 15.7 kPa respectively. On the other hand, the steady-state atmospheres achieved could be considered as optimum for plum fruit, according to preliminary experiments and in agreement with previous work (Cantín *et al.*, 2008).

Ethylene concentrations inside the packages, were affected by the addition of essential oils, showing lower concentrations inside the bags of ethylene when essential oils were added (Fig. 2A). With respect to ethylene production rates (measured under cold conditions after opening the packages) in control fruit ethylene production was higher than in those stored under MAP conditions (Fig. 2B) without differences attending to the essential oils added. This plum cultivar has the typical climacteric ripening pattern reported for most plum cultivars, with high ethylene production rates associated with plum ripening (Díaz-Mula *et al.*, 2008). The effect of MAP on inhibiting ethylene production is attributed to both lower O₂ and higher CO₂ concentrations inside film. Low O₂ is known to inhibit 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase (ACO), one of the key enzymes regulating ethylene biosynthesis, while CO₂ is an antagonist of ethylene action and impedes its autocatalytic synthesis when present at concentrations over 1 kPa, these effects being additive to those of low O₂ atmospheres (Artés *et al.*, 2006).

Colour changes were significantly delayed in those plums stored under MAP conditions, with lower changes in flesh in plums packed with film M than in those with film P (Fig. 3A). The differences of hue angle on peel were lower (data not shown) because the black colour of the skin of this cultivar. In addition we found an additional benefit of adding essential oils to the batches in all cases. Since there were significant differences in the gas composition within packages, the induced benefit in the fruit quality parameters should be attributed to the essential oils themselves. These effects could be attributed to the delay in anthocyanin and carotenoid biosynthesis induced by MAP, according to a previous report (Artés *et al.*, 2006), which was higher in those plums stored under the more impermeable film.

The weight losses of plums stored under MAP conditions were significantly lower, than control fruits but we didn't find a general pattern related to the different permeability of the films (data not shown). The effects of packages in reducing weight loss could be due to the effect of films on water vapour exchange (Martínez-Romero *et al.*, 2003). On the other hand, the ratio between TSS and TA (TSS/TA) considered as a fruit ripening index, increased sharply during storage in control plums. However, with the use of both films (P and M) the values of TSS/TA were lower than in control plums, and even differences were obtained between the 2 film types, with the lowest TSS/TA ratio for those plums packaged with film M, through maintenance of TSS with an increasing of TA in fruits under MAP conditions (data not shown).

Fruit firmness, decreased significantly during storage (Fig. 3B). The softening process was significantly delayed by the use of MAP, with slightly higher fruit firmness retention in those plums packed in film M than in film P. The effect of MAP on delaying softening could be an ethylene-mediated effect. However, a direct effect of high CO₂ and

Madrid 2012

low O₂ on inhibiting cell-wall degrading enzymes could not be discounted, since delay in softening under MAP conditions has been observed in both climacteric fruit, such as peach and nectarine (Akbudak and Eris, 2004), and non-climacteric ones, such as table grape (Martínez-Romero *et al.*, 2003). The addition of essential oils resulted in maintenance of flesh firmness. This effect has been reported in sweet cherry (Serrano *et al.*, 2005) although the mechanism is still unclear but some additive effect of these compounds with MAP in the reduction of the activity of these enzymes could be expected.

It was observed for both peel and flesh, an increase in the total phenolics during plum storage (Fig. 4). The increases in total phenolics were delayed by the use of MAP packages, with significant differences between P and M films which might be due to the effect of MAP (low O₂ and high CO₂) in retarding postharvest ripening, as can be inferred by the reduced ethylene production, fruit softening, colour change and acidity loss (Díaz-Mula *et al.*, 2011). In addition, the possible effect of low O₂ and high CO₂ on the delay in phenylalanine ammonia lyase (PAL), chalcone synthase or anthocyanidin synthase, the key enzymes in the biosynthesis pathway of phenolic compounds (Desjardins, 2008), or reduced polyphenol oxidase (PPO) or peroxidase activities (Pourcel *et al.*, 2007), the main enzymes responsible of polyphenols degradation, should not be discounted. As for total phenolics, differences in carotenoid concentrations existed among types of tissue (data not shown). In this regard, the peel, always had 5–7-fold more carotenoids than flesh tissues and MAP packages induced a delay in the decrease of total carotenoids during storage (Fig 5A). Anthocyanins were analyzed by HPLC–DAD and were detected in the peel and flesh, with two individual anthocyanins being identified, cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3-rutinoside, the latter found at significant lower concentrations (data not shown), according to previous reports in other purple plum cultivars (Tomás-Barberán *et al.*, 2001; Díaz-Mula *et al.*, 2008). In control fruit, significant increases in the concentration of both anthocyanins in the peel were found during storage, while these increases were retarded in those plums stored under MAP conditions, with generally no significant differences attributable to film type as it is shown on Fig. 5B for cyaniding-3-glucoside. Increases in carotenoids and anthocyanins concentrations, are responsible for the colour changes associated with the ripening process on the tree (Díaz-Mula *et al.*, 2008) or after cold storage (Díaz-Mula *et al.*, 2009). However, these increases were delayed in plums stored under MAP conditions, leading to a reduction in the changes in colour as shown previously. Accordingly, increases in anthocyanins in sweet cherry, strawberry, blueberry and raspberry, and in lycopene in tomato and watermelon, were lower during storage under MAP conditions than in control fruit stored in open air, due to the effect of MAP on delaying the development of the postharvest ripening process (Jones, 2007). On the other hand we found a positive effect on the delaying of the polyphenols, carotenoids and anthocyanins accumulation, when essential oils were added to the packages in some cases. The effect of essential oils on increasing or maintaining total phenolics has been also found using thymol in table grapes (Valero *et al.*, 2006) or thymol, eugenol and menthol in strawberry (Wang *et al.*, 2007).

TAA was measured in both hydrophilic (H-TAA) and lipophilic (L-TAA) fractions for both peel and flesh tissues, for which H-TAA was always higher in the peel than in the flesh (Fig. 6). During storage, control fruit exhibited significant increases in H-TAA and significant decreases in L-TAA in both peel and flesh. For all cases, a

Madrid 2012

significant delay in these changes was observed in the plums stored under MAP conditions with both film types, with significant differences attributable to film type. In all cases, film M showed lower levels of H-TAA and higher levels of L-TAA. These levels (L-TAA) were slightly higher when essential oils were added to the packages in both peel and pulp (Fig. 7). These essential oils, have been described to exhibit a natural antioxidant activity, close to that of vitamin C and mainly due to the presence of hydroxyl groups in the benzene ring (Shahidi et al., 1992). Thus, the combined use of both compounds together with MAP storage would lead to maintenance or increase in the TAA of 'Black Amber' plum.

It is interesting to highlight that to measure the antioxidant capacity of plums, the contribution of L-TAA should be taking into account, since the values obtained for L-TAA were similar as those of H-TAA, in both peel and flesh of this cultivar. Taking into account data for all sampling dates and storage conditions, a positive correlation was found between H-TAA and total phenolics content ($y = 0.75x + 452$; $R^2=0.769$, for peel and $y = 1.54x + 41.53$; $R^2=0.872$, for flesh), and between L-TAA and total carotenoids ($y = 97.88x - 69$; $R^2=0.789$, for peel and $y = 33.27x + 33.08$; $R^2=0.870$, for flesh). Correlations between total phenolics and H-TAA levels at harvest have been found in other plum cultivars and stone fruit, such as peach, nectarine and sweet cherry (Gil et al., 2002; Díaz-Mula et al., 2008), although during storage these correlations have only been found in our previous work (Díaz-Mula et al., 2009). On the other hand, L-TAA has been also been correlated with total carotenoids in a wide range of plum cultivars during on-tree ripening (Díaz-Mula et al., 2008).

CONCLUSIONS

In conclusion, MAP conditions and the addition of essential oils was useful to delay the ripening process of 'Black Amber' plum through a delay in the changes in colour, and the losses of firmness and acidity, as compared with controls. In most cases the effect was higher in those plums packaged with film M than film P, probably due to the higher atmosphere modification by the use of film M.

BIBLIOGRAPHY

- Akbudak, B., Eris, A., 2004. Physical and chemical changes in peaches and nectarines during the modified atmosphere storage. *Food Control* 15, 307–313.
- Arnao, M.B., Cano, A. y Acosta, M. 2001. The hydrophilic and lipophylic contribution to total antioxidant activity. *Food chemistry*. 73,239-244.
- Artés, F., Gómez, P.A., Artés-Hernández, F., 2006. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Stewart Postharvest Rev.* 5, 2.
- Cantín, C.M., Crisosto, C.H., Day, K.R., 2008. Evaluation of the effect of different modified atmosphere packaging box liners on the quality and shelf life of 'Friar' plums. *HortTechnology* 18, 261–265.
- Desjardins, Y., 2008. Physiological and ecological functions and biosynthesis of health-promoting compounds in fruit and vegetables. In: Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I.

Madrid 2012

- (Eds.), *Improving the Health-Promoting Properties of Fruit and Vegetable Products*. CRC Press-Taylor & Francis, Boca Raton, FL, USA, pp. 201–247.
- Díaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Guillén, F., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Valero, D., Serrano, M., 2008. Changes in physicochemical and nutritive parameters and bioactive compounds during development and on-tree ripening of eight plum cultivars: a comparative study. *J. Sci. Food Agric.* 88, 2499–2507.
- Díaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Serrano, M., Valero, D., 2009. Changes in hydrophilic and lipophilic antioxidant activity and related bioactive compounds during postharvest storage of yellow and purple plum cultivars. *Postharvest Biol. Technol.* 51, 354–363.
- Díaz-Mula, Martínez-Romero, D., Castillo, Serrano, M., Valero, D., 2011. Modified atmosphere packaging of yellow and purple plum cultivars.1. Effect on organoleptic quality. *Postharvest Biol. Technol.*, 61, 110-116
- Gil, M.I., Tomás-Barberán, F.A., Hess-Pierce, B., Kader, A.A., 2002. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *J. Agric. Food Chem.* 50, 4976–4982.
- Jones, R.B., 2007. The effects of postharvest handling conditions and cooking on anthocyanin, lycopene and glucosinolate content and bioavailability in fruits and vegetables. *NZ J. Crop Hort.* 35, 219–227
- Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., Valero, D., Serrano, M., 2003. Modified atmosphere packaging maintains quality of table grape. *J. Food Sci.* 68, 1838–1843.
- Pourcel, L., Routaboul, J.M., Cheynier, V., Lepiniec, L., Debeaujon, I., 2007. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends Plant Sci.* 12, 29–36.
- Serrano, M., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Guillén, F., Valero, D., 2005. The use of antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in sweet cherry storage. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 6, 115–123
- Shahidi, F., Janitha, P. K., & Wanasundara, P. D. (1992). Phenolic antioxidants. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, 32, 67-103.
- SPSS, VERSION 12.0 for Windows. 2001. SPSS Inc., Chicago, IL.
- Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I., Cremin, P., Waterhouse, A.L., Hess-Pierce, B., Kader, A.A., 2001. HPLD-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *J. Agric. Food. Chem.* 49, 4748–4760.
- Valero, D., Serrano, M., 2010. *Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality*. CRC-Taylor & Francis, Boca Raton.
- Valero, D., Valverde, J. M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., & Serrano, M. 2006. The combination of modified atmosphere packaging with eugenol or thymol to maintain quality, safety, and functional properties of table grapes. *Postharvest Biol. Technol.* 41, 317-327.

Madrid 2012

Wang, C. Y., Wang, S. Y., Yin, J. J., Parry, J., & Yu, L. L. 2007. Enhancing antioxidant, antiproliferation, and free radical scavenging activities in strawberries with essential oils. *J. Agric. Food. Chem.* 55, 6527-6532

Figures

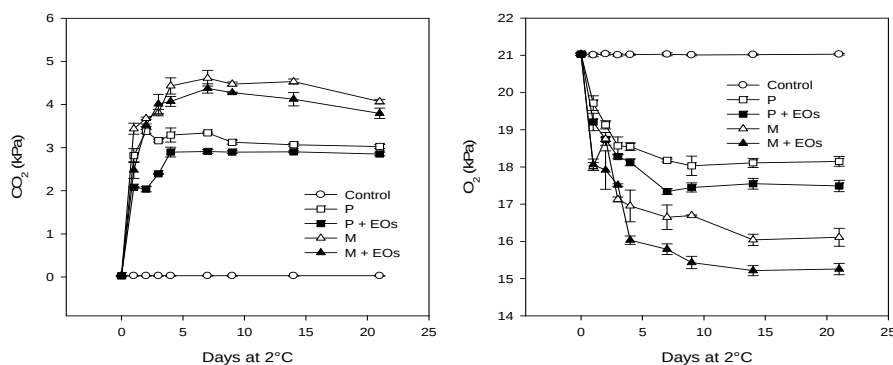


Figure 1. Changes in CO₂ and O₂ concentrations (kPa) of 'Blackamber' plum inside MAP packages with macroperforated film (control), and film P and M alone or containing essential oils. Data are the mean±SE (n = 5).

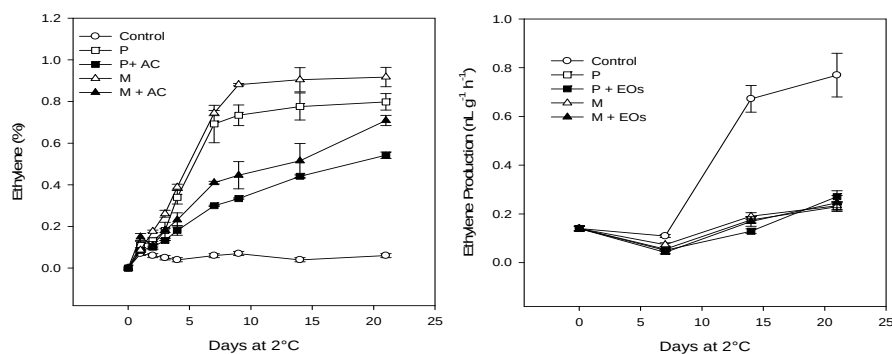


Figure 2. Ethylene concentration (%) inside packages containing plums 'Blackamber' (A) and ethylene production rates (nL g⁻¹ h⁻¹) after removing the fruit from MAP packages (B) during storage at 2 °C with macroperforated film (control), and with films P and M alone or with essential oils. Data are the mean±SE (n = 5).

Madrid 2012

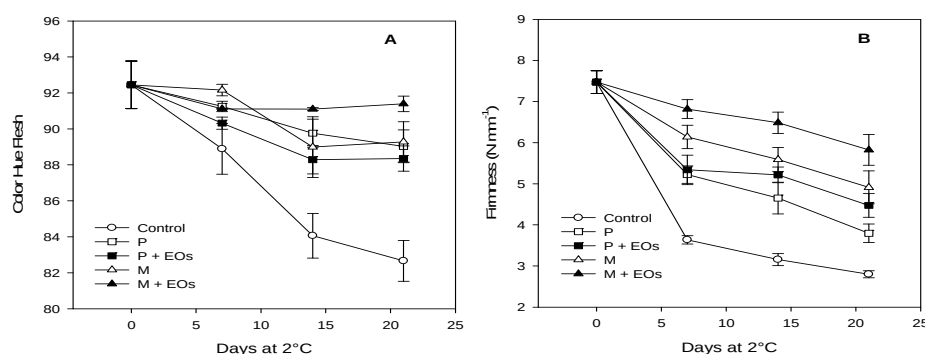


Figure 3. Colour (Hue angle) in flesh (A) and fruit firmness (Nmm^{-1}) (B) changes during storage at 2°C 'Blackamber' plum under MAP conditions with film macroperforated (control), and films P and M alone or with essential oils. Colour and fruit firmness data are the mean $\pm$ SE ($n = 48$) and ($n=24$) respectively.

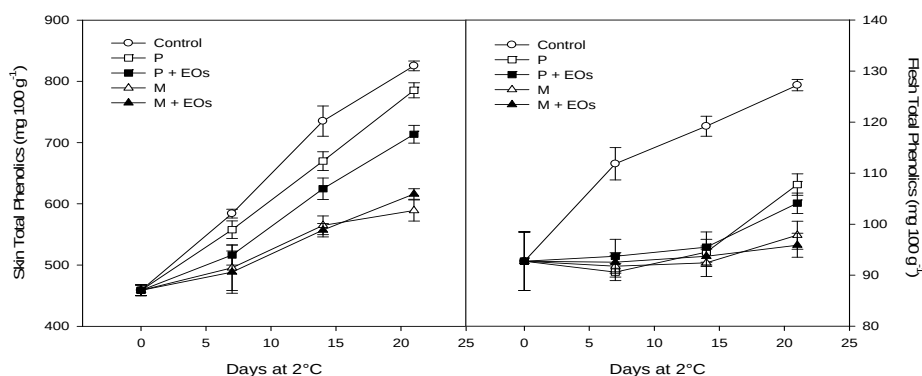


Figure 4. Changes in total phenolics (peel and flesh) during storage at 2 °C of 'Blackamber' plum under MAP conditions during storage with film macroperforated (control), and films P and M alone or with essential oils film (control). Results are the mean $\pm$ SE ($n = 6$).

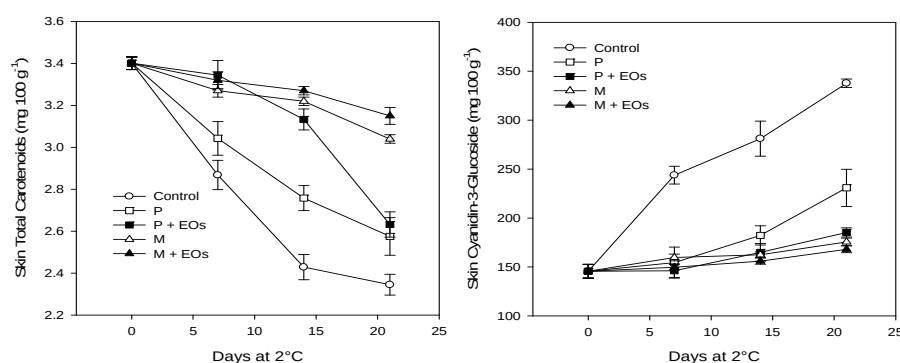


Figure 5. Changes in total carotenoids ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$) (A) and cyanidin-3-Glucoside ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$) (B) in the peel of 'Blackamber' plum stored at 2°C under MAP conditions during storage with film macroperforated (control), and films P and M alone or with essential oils film (control). Results are the mean $\pm$ SE ($n = 6$).

Madrid 2012

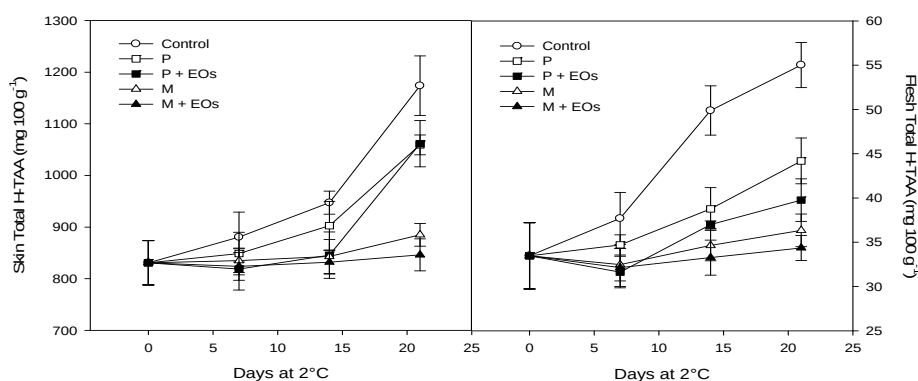


Figure 6. Changes in total hydrophilic antioxidant activity (H-TAA) in the peel and flesh of 'Blackamber' plum stored at 2°C under MAP conditions during storage with film macroperforated (control), and films P and M alone or with essential oils film (control). Results are the mean $\pm$ SE (n = 6).

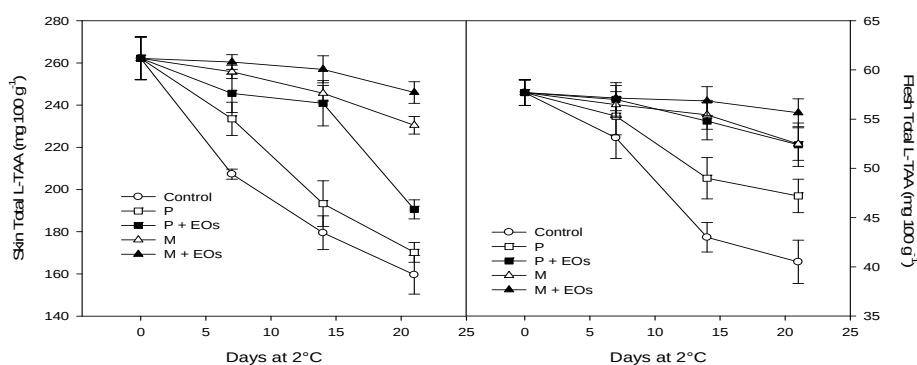


Figure 7. Changes in total lipophilic antioxidant activity (L-TAA) in the peel and flesh of 'Blackamber' plum stored at 2°C under MAP conditions during storage with film macroperforated (control), and films P and M alone or with essential oils film (control). Results are the mean $\pm$ SE (n = 6).

Madrid 2012

Madrid 2012

EFFECTOS DE TRATAMIENTOS DE PRE-REFRIGERACIÓN Y DE CALOR EN LA CONSERVACIÓN DE CEREZAS (*Prunus avium* L.).

Valverde, J.M.¹; Valero, D.¹, Guillén, F.¹; Zapata, P.J.¹; Martínez-Romero, D.¹; Serrano, M.²; Díaz-Mula, H.M.² Castillo, S.¹,

¹Dep. Tecnología Agroalimentaria, ²Dep. Biología Aplicada, Universidad Miguel Hernández. EPSO. Ctra. Beniel km. 3.2, 03312, Orihuela, (Alicante), España.

Resumen

La cereza es un fruto no climatérico, y por tanto ha de ser recolectado en las condiciones óptimas para su consumo, color, madurez etc. Al igual que el resto de cerezas y otros frutos con hueso presenta una corta vida útil que limita los procesos de comercialización y de conservación por parte de los consumidores finales. En este sentido, se ha estudiado la eficacia de diferentes tratamientos post-cosecha en cerezas “Sonata” recolectadas en su estado óptimo para su comercialización. En este estudio se realizaron tratamientos pre-refrigeración forzada y aplicación de calor. La pre-refrigeración se realizó en una cámara a 5 °C, durante 30 min, y el tratamiento térmico con inmersión en agua a 40°C durante 4 minutos. Una vez tratadas se conservaron en una cámara a 2° C. Se estudio la influencia de estos tratamientos analizando una serie de parámetros, tanto fisiológicos como físico-químicos relacionados con la calidad organoléptica y nutritivas de las cerezas. Como parámetros fisiológicos se analizaron la tasa de respiración y la producción de etileno y como parámetros físico-químicos se determinaron el color, la firmeza del fruto, el estado del pedúnculo, el contenido de sólidos solubles y la acidez. Con estos parámetros se estudio el efecto de estos tratamientos en la conservación y mantenimiento de la calidad de las cerezas.

Los tratamientos de prerrefrigeración y calor aplicados en las cerezas “Sonata” fueron capaces de retrasar la tasa de producción de etileno así como la respiración observándose este efecto de forma más acentuada durante el almacenamiento a 20°C. Además, ayudaron a mantener algunos parámetros de calidad de las cerezas, como el color, deterioro del pedúnculo, pérdida de peso durante la conservación, siendo la prerrefrigeración el sistema más efectivo, por lo que se pueden considerar tratamientos aplicables con objeto de mejorar la calidad general de la cereza.

Palabras clave: cerezas, tratamiento térmico, calor, conservación, prerrefrigeración.

INTRODUCCIÓN

Las cerezas poseen un patrón de maduración no climatérico (Serrano, et al., 2005). La cereza es uno de los frutos más apreciados por los consumidores y que alcanzan mayores precios en el mercado, por ser uno de los primeros frutos de temporada y tener una excelente calidad, debida fundamentalmente a su color, sabor, textura y aroma, aunque especialmente, con el contenido de azúcares(o sólidos solubles totales SST) y la relación SST/Acidez los parámetros (índice de madurez IM) que determina el grado de aceptación por los consumidores de las diferentes variedades

La prerrefrigeración es una técnica necesaria, en muchos casos, como la primera etapa de la comercialización de frutas y hortalizas frescas en condiciones de calidad óptima y que contribuye decisivamente al éxito de la tecnología de conservación

Madrid 2012

frigorífica posterior. (Namesny Vallespir et al., 1990). Por otro lado se hace necesario el uso de nuevas tecnologías que por un lado permitan alargar la vida útil de este fruto y por otro no tenga ninguna connotación negativa sobre el consumidor, ya que es un fruto que se daña mecánicamente durante la recolección y el procesado, así como en el campo por ser susceptible al “Craking” (rajado) y muy vulnerable a los hongos (Alique et al., 2005). Aparte de la conservación frigorífica se han estudiado muy pocas tecnologías post-cosecha que sean capaces de mantener la calidad de la cereza. El uso de los tratamientos con calor (baño de agua caliente, aire caliente forzado y vapor) se ha mostrado efectivo para inducir la tolerancia de la fruta a temperaturas frías y a la reducción de los síntomas de daños por frío durante de almacenamiento (Fallik et al., 2004), de este modo se produce un incremento de la posibilidad de almacenamiento y comercialización de una amplia gama de producto. Hay diversas combinaciones de temperatura y duración del tratamiento por calor, con un rango que oscila entre 43-53 °C y desde unos pocos minutos hasta 2h, dependiendo de la especie y el tamaño de la fruta. Un calentamiento intermitente en granadas a 20 °C cada 6 días a 2 ó 5 °C o una curación a 33 °C durante 3 días anteriores a un almacenamiento a 2 °C reduce el decaimiento y alivia los síntomas producidos por daños por frío (Artes et al., 2000). El uso de tratamiento por calor para productos recolectados y cortados a 50 °C y 10 min mejora la calidad del melón fresco, controla eficazmente el pardeamiento y mantiene la firmeza durante el almacenamiento, reduciendo las tasas de respiración y no varía sustancialmente su composición química (Koukounaras et al., 2008).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó cerezas (*Prunus avium* L.), de la variedad “Sonata”. Las cerezas fueron cultivadas en una finca de la localidad de Villena (Alicante). El fruto se recolectó en su estado óptimo de madurez y comercialización, transportándose hasta el Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad Miguel Hernández, situado en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela (Alicante). Se seleccionaron 200 cerezas, cuyo estado de madurez y color eran semejantes, con un tamaño se cereza de $28,21 \pm 0,3$ mm de diámetro y $11,6 \pm 0,14$ g de peso. Se separaron en lotes de 10 cerezas y agrupados los muestreos con tres repeticiones cada uno. Los tratamientos realizados fueron, control y tratamientos térmicos de prerrefrigeración y agua caliente a 40° C. Los primeros lotes se muestrearon el día de recolección realizándose los tratamientos térmicos y se almacenaron en frío y otros se almacenaron a 20°C durante los dos días siguientes, que se tenían que muestrear. De los lotes almacenados en conservación (2°C) se tomaron muestras los días 4, 8 y 12 y los lotes almacenados en “Shelf life” fueron igualmente almacenados en frío pero después se mantuvieron dos días más a 20°C, siendo los días de muestreo 2, 6, 10 y 14, simulando así las condiciones de comercialización.

Para los tratamiento de Prerrefrigeración de las cerezas, se utilizó un enfriador por aire forzado experimental desarrollado en el Departamento de Tecnología agroalimentaria Área de Tecnología de Alimentos (Castillo et al., 2004). El equipo de refrigeración funcionó dentro de una cámara de refrigeración convencional, que se encontraba entre un rango de temperatura de 6-7 °C, y 85-95 % de HR. Las cerezas se consideraron que estaban refrigerados cuando alcanzaron los 7/8 de la temperatura de enfriamiento, siendo el tiempo de refrigeración de $23 \pm 1,5$ minutos

Madrid 2012

Tratamiento térmico con Agua caliente se utilizó un baño de agua termostatado en el que se introdujeron cada uno de los lotes de cerezas, como muestra la figura 2, con agua caliente a 40 °C durante 4 minutos

Se realizaron determinaciones analíticas: pérdidas de peso, color, estado del pedúnculo, tasas de respiración y producción de etileno, firmeza, sólidos solubles, acidez. Pérdidas de peso. La determinación del peso, desde el día 0 hasta el final de la conservación, expresado en porcentaje de pérdida de peso. El color se determinó sobre la zona ecuatorial de cada cereza, mediante un colorímetro tri estímulo Minolta CR-300 y usando el Sistema Cie Lab (L^* , a^* y b^*). Media de tres estímulos por cereza y media del lote. Sólidos solubles totales, se empleó un refractómetro digital modelo Conecta DR101, con una sensibilidad de $\pm 0,2$ ° BRIX. La acidez se determinó mediante un valorador potenciométrico mediante un pH-metro modelo Metrohm 760 sample Changer. Tasa de respiración y de la producción de etileno la medida de la actividad respiratoria se realizó mediante el sistema estático o cerrado, el cual consiste en guardar un lote de 10 cerezas, en un recipiente de 0,5 L con un cierre hermético durante un periodo de 30 minutos. Los frascos de vidrio, poseen un tapón que permite la extracción de jeringuillas de 1 mL, con las que se determina la concentración de CO₂ y de etileno, según el procedimiento descrito previamente, (Díaz-Mula et al., 2009).

Estado del pedúnculo: Se asignó un criterio de evaluación según el grado de pardeamiento: Ausencia de pardeado (verde) (0); ¼ pardeado (1); Mitad pardeado (2); ¾ pardeado (3); Totalmente pardeado (4).

Determinación de la firmeza mediante un texturómetro TA-XT2i (Textura Analyzer, Stablem Microsystems, Godalming, UK) para determinar la firmeza del fruto se le aplicó la fuerza necesaria para deformar un fruto un 3 % respecto a su diámetro ecuatorial. Los resultados se expresaron como la relación existente entre la fuerza necesaria para deformar un fruto un 3 % y la distancia de dicha deformación (N mm⁻¹).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se puede observar el efecto los tratamientos aplicados en las cerezas Sonata, térmicos y de conservación posterior a 2°C, retrasaron la tasa de producción de etileno hasta niveles muy bajos, oscilando entre 0,1 y 0,3 nL g⁻¹ h⁻¹, donde no se observaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos térmicos y el control. Durante la conservación en almacenamiento a 20°C, los tratamientos térmicos mantuvieron la producción de etileno a los mismos niveles que en conservación en frío, mientras que en los control esta tasa aumento al final del periodo de comercialización hasta valores 5 veces superiores. Esta producción de etileno no puede atribuirse a los tejidos del fruto, ya que la cereza es un fruto no climatérico y por tanto, con una producción de etileno muy baja (Giovannoni et al., 2001), sino que debe atribuirse a la contaminación fúngica.

Madrid 2012

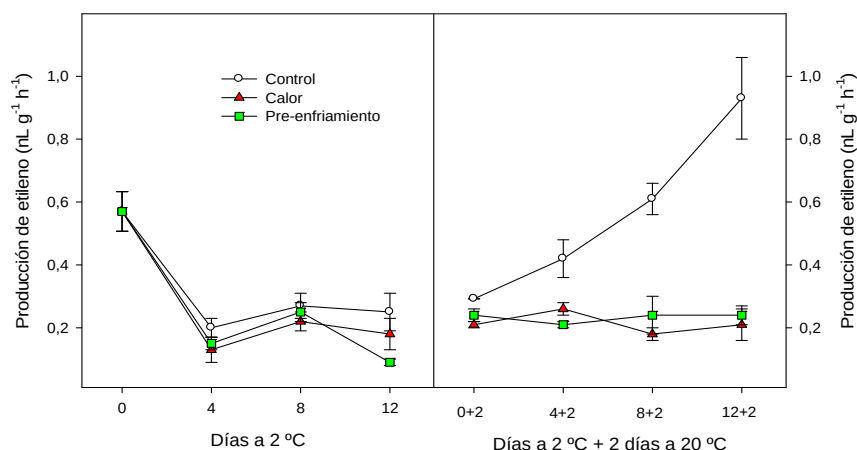


Figura 1. Tasa de producción de etileno durante la conservación en frío y en los dos días posteriores a 20°C, de las cerezas de la variedad Sonata con diferentes tratamientos para su conservación. Los datos son la media $\pm$ ES.

Cuando se estudió la tasa de respiración (CO₂) se observó un comportamiento semejante al mostrado anteriormente por el etileno, la tasa de respiración de las cerezas recién recolectadas (temperatura ambiente) estuvo entorno a los 55 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, al aplicarle los tratamientos térmicos, se apreció un rápido descenso de la tasa de respiración como se observa en la Figura 2, con disminución de esta durante el almacenamiento en frío, siendo las diferencias entre los tratamientos muy pequeñas se mantuvieron alrededor de 10 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, pero en el día 12 se produjo un aumento de la tasa de respiración hasta 30 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ durante el periodo de conservación de 2°C. Durante el almacenamiento a 20°C se produjo un ligero aumento de la tasa de respiración existiendo diferencias significativas entre los no tratados y los preenfriados previamente, este mismo efecto se produjo en cerezas “Lapins” y “Sunburst” cuando fueron preenfriadas con agua (Alique et al., 2006).

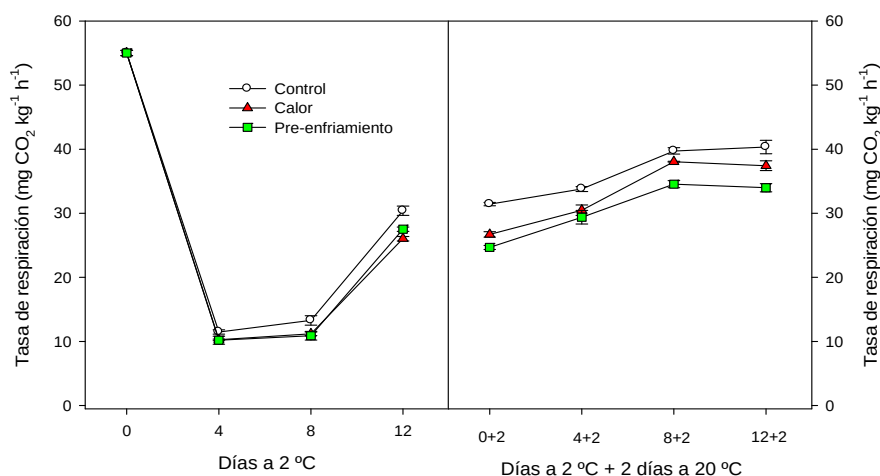


Figura 2. Tasa de respiración durante la conservación a 2°C y a los dos días posteriores a 20°C, de cerezas de la variedad “Sonata” una vez realizado los tratamientos.

Al estudiar estas diferencias podemos concluir que los dos tratamientos térmicos fueron efectivos en retrasar ligeramente la producción de CO₂. La razón por la que

Madrid 2012

tratamientos térmicos reducen ligeramente la tasa de respiración la desconocemos, si bien se podría postular que la disminución del metabolismo por el efecto de la bajada rápida de la temperatura y por la inhibición de de los enzimas en tratamiento térmicos que bloquean los procesos metabólicos pudiera reducir la producción de CO₂.

En cuanto a las pérdidas de peso (Figura 3), estas aumentaron a lo largo del almacenamiento a 2 °C, como durante su almacenamiento a 20°C. Las pérdidas de peso fueron mayores en las cerezas control y menores en aquellos frutos que fueron tratados por calor y pre-enfriamiento, siendo las diferencias de peso entre tratamientos y control de un 2 %. Estas pérdidas de peso podrían ser debidas a las diferencias de presiones de vapor que existen entre la atmósfera interna saturada del fruto y la atmósfera que rodea al mismo, produciéndose una alta transpiración, y en consecuencia pérdidas de peso por deshidratación (Fockens, et al., 1972).

La calidad y color verde del pedúnculo es un factor muy importante de cara a la elección del consumidor (Figura 4), ya que los pedúnculos se pardean, podría ser debido a las reducción de la deshidratación, como la degradación de las clorofilas y por tanto el pardeamiento del pedúnculo (Drake et al., 1988), las cerezas pierden agua 14 veces más rápido que los frutos (Sekse et al., 1996). Los pedúnculos exhibieron un marchitamiento tanto mayor cuanto mayor fue el periodo de almacenamiento al que las cerezas fueron sometidas. Sin embargo los pedúnculos tratados térmicamente fueron valorados más positivamente con respecto a las cerezas control. Asimismo, durante el almacenamiento a 20°C las cerezas tratadas mostraron también este mejor aspecto.

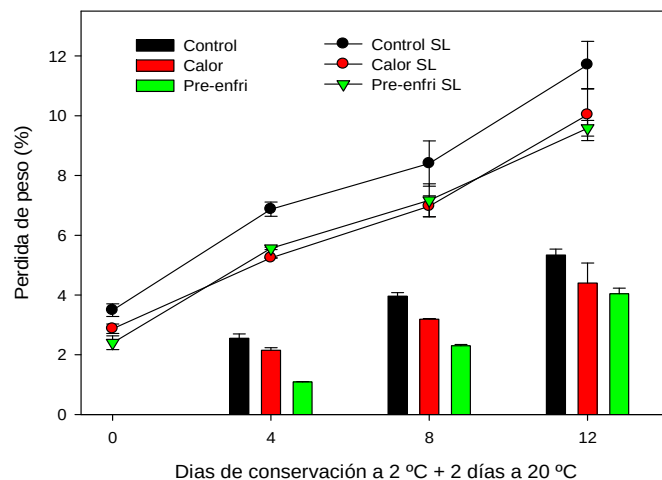


Figura 3. Pérdidas de peso durante la conservación a 2°C y a los dos días posteriores a 20°C, de cerezas de la variedad “Sonata” una vez realizado los tratamientos

Madrid 2012

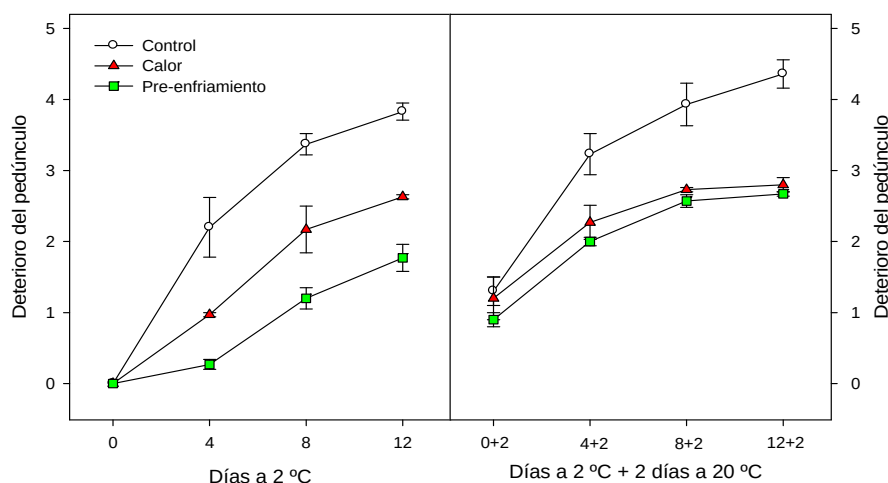


Figura 4. Deterioro del pedúnculo durante la conservación a 2°C y a los dos días posteriores a 20°C, de cerezas de la variedad “Sonata”.

Con respecto al color de los frutos (ángulo Hue*)(Figura 5), se observó un retraso en la pérdida de tonalidad en aquellos frutos que fueron tratados térmicamente sobre todo los preenfriados que mantuvieron la tonalidad durante la conservación a 2 °C, en otros estudios donde se utilizaron recubrimientos con Aloe vera se produjo el mismo efecto (Martínez-Romero et al., 2006). El mantenimiento del ángulo Hue* denota que el proceso de senescencia del fruto se está retrasando. Sin embargo las cerezas que fueron sometidas a conservación a 20°C, el parámetro Hue* se mantuvo mejor con el tratamiento de pre-enfriamiento.

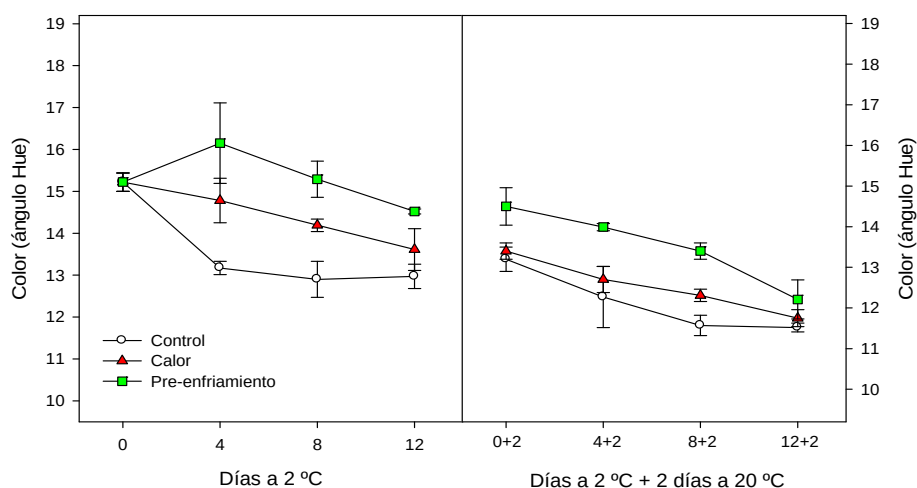


Figura 5. Evolución del parámetro Hue* durante la conservación a 2°C y a los dos días posteriores a 20°C, de cerezas de la variedad “Sonata”.

Con respecto a la firmeza (Figura 6), se vio como durante la conservación a 2°C la firmeza en los distintos tratamientos se mantuvo. No se encontraron diferencias significativas de firmeza esta se mantuvo en torno a 1,6 N mm⁻¹ desde el día de la recolección hasta el último día de conservación, los frutos controles en el ultimo periodo descendieron hasta llegar 1,5 N mm⁻¹ al igual que ocurrió en los tratamientos por frío y calor realizados en “Ambrunes” (Alique et al., 2005). Durante la conservación

Madrid 2012

a 20°C la firmeza de los tres tratamientos descendió ligeramente durante todo el periodo llegando hasta 1,4 N mm⁻¹.

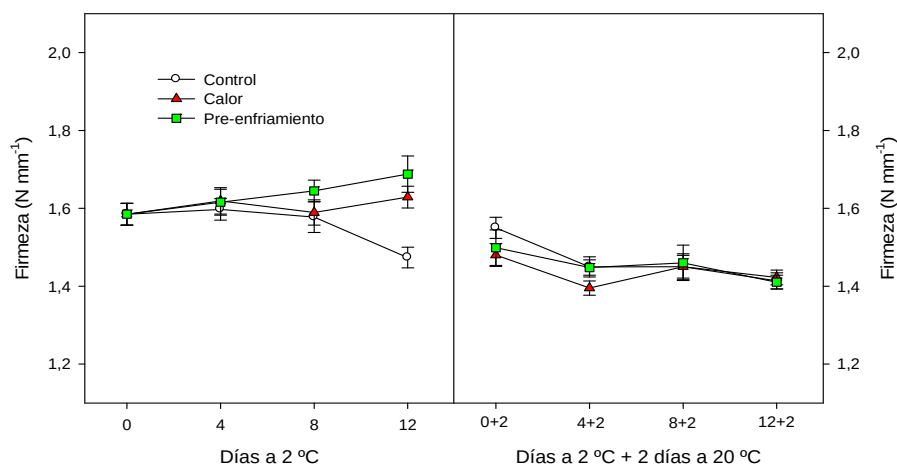


Figura 6. Evolución de la firmeza durante la conservación a 2°C y a los dos días posteriores a 20°C, de cerezas de la variedad “Sonata”.

La evolución de los sólidos solubles totales permaneció prácticamente constante durante el almacenamiento en frío así como durante su posterior almacenamiento a 20°C siendo estos valores de aproximadamente de 18± 0,5 °Brix. Similares resultados se han obtenido en relación a estos tratamientos en otros trabajos (Neven et al., 2000).

En la Figura 7 podemos ver la evolución de la acidez para el periodo de conservación, observando una disminución a lo largo del periodo de conservación para los distintos tratamientos, siendo el tratamiento de prerefrigeración el mantuvo niveles mas altos con respecto a los no tratado de manera significativa. Por lo que la acidez titulable de las cerezas sí se vio afectada por el tratamiento realizado sobre ellas. Los tratamientos retrasaron la pérdida de acidez, posiblemente debido a una menor respiración en los frutos tratados. Este efecto también se ha contrastado por otros autores (Serrano et al., 2005).

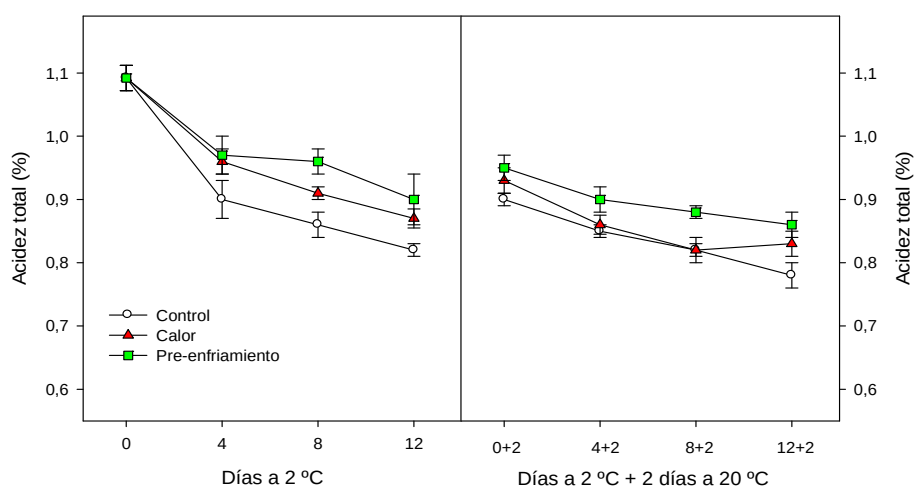


Figura 7. Evolución de la Acidez Total durante la conservación a 2°C y a los dos días posteriores a 20°C, de cerezas de la variedad “Sonata”.

Madrid 2012

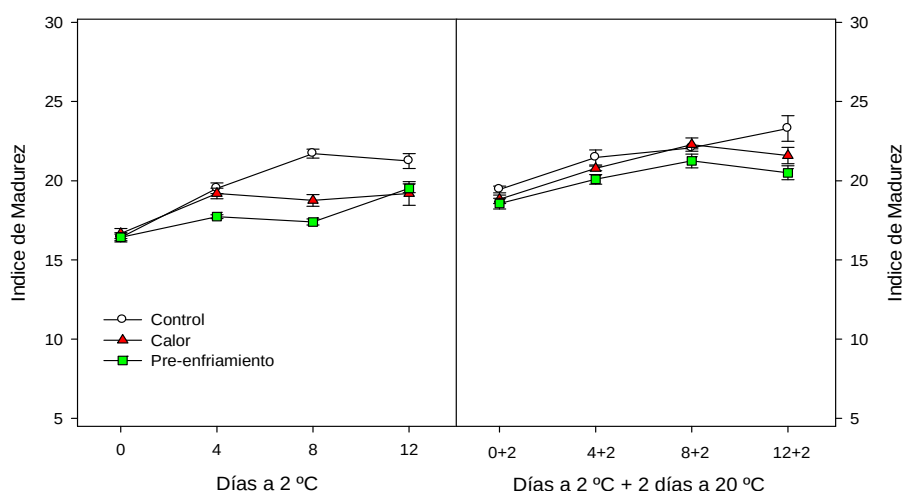


Figura 8. Evolución del Índice de Madurez durante la conservación a 2°C y a los dos días posteriores a 20°C, de cerezas de la variedad “Sonata”.

Tras estudiar los parámetros de sólidos solubles y acidez, observamos como para las cerezas conservadas en frío, el índice de madurez (Figura 8) es significativamente superior para los frutos control con respecto a los tratados térmicamente, en el caso de conservación a 2°C, siendo esto debido al descenso de acidez que se produce durante la conservación. En el caso de self life vemos como el índice de madurez aumenta ligeramente durante todo el periodo, no existiendo diferencias significativas para los distintos tratamientos.

Los tratamientos térmicos aplicados en las cerezas “Sonata” fueron capaces de retrasar la tasa de producción de etileno así como la respiración con respecto a los no tratados, observándose como durante el almacenamiento a 20°C existen mayores diferencias entre prerrefrigerados y control. Los tratamientos térmicos aplicados de prerrefrigeración y calor ayudan a mejorar algunos parámetros de calidad de las cerezas, como el color, deterioro del pedúnculo, pérdida de peso durante la conservación, siendo la prerrefrigeración el sistema más efectivo, por lo que se pueden considerar tratamientos aplicables con objeto de mejorar la calidad general de la cereza.

AGRADECIMIENTOS

Este Trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia y tecnología (Proyecto AGL2006 04359/ALI y por la Comisión Europea, Fondos FEDER). Huertas Beca Pre-Doctoral (BES-2007-15415) del Ministerio de Educación y Ciencia a Huertas María Díaz Mula. Los autores agradecen a la empresa “Finca JM Los Frutales” el material.

BIBLIOGRAFÍA

Alique, R.; Martinez, M.A.; Alonso, J. 2006. Metabolic response to two hydrocooling temperatures in sweet cherries cv Lapins and cv Sunburst. *J. Sci. Food Agric.* 86: 1847-1854

Madrid 2012

- Alique, R.; Zamorano, J.P.; Martinez, M.A.; Alonso, J. 2005. Effect of heat and cold treatments on respiratory metabolism and shelf-life of sweet cherry, type picota cv "Ambrunes". *Postharvest Biol Technol.* 35: 153-165.
- Artes, F.; Tudela A. J.; Villaescusa. R. 2000. Thermal postharvest treatments for improving pomegranate quality and shelf life. *Postharvest Biol. Technol.* 18: 245-251.
- Castillo, S.; Penalva, M^a.; Galindo; M^a T^a.; Valero, D.; Serrano, M^a.; Martínez-Romero, D. 2004. Efectos en el tiempo de semienfriamiento según los caudales de aire en la prerrefrigeración de limones para consumo en fresco. *Actas del III Congreso Español de Ingeniería de Alimentos*. Pamplona, España. 1119-1207.
- Díaz-Mula, H.M.; Zapata, P.J.; Guillén F.; Martínez-Romero D.; Castillo, S.; Serrano, M.; Valero, D. 2009. Changes in hydrophilic and lipophilic antioxidant activity and related bioactive compounds during postharvest storage of yellow and purple plum cultivars. *Postharvest Biol Technol.* 51: 354–363.
- Drake, S.R., Kupferman, E.M. Y Fellman, J.K. 1988. "Bing" sweet cherry (*Prunus avium* L.) quality as influenced by wax coatings and storage temperatures. *J. Food Sci.* 53:124-126.
- Fallik, E. 2004. Prestorage hot water treatments (inmersión, rising and brushing). *Postharvest Biol. Tecnol.* 32:125-134.
- Fockens, H.E. y Meffert, H.T.Th. 1972. Biophysical properties of horticultural products as related to loss of moisture during cooling down. *J. Sci. Food Agric.* 23: 285-298
- Giovannoni, J., 2001. Molecular biology of fruit maturation and ripening. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 52: 725-749
- Koukounaras, A.; Diamantidis, G.; Sfakiotakis, E. 2008. The effect of heat treatment on quality retention of fresh-cut peach. *Postharvest Biol. Technol.* 48: 30–36
- Lelièvre, J.M., Latché, A., Jones, V., Bouzayen, M. Y Pech, J.C. 1997. Ethylene and fruit ripening. *Physiol. Plant.* 101: 727-739.
- Martinez-Romero, D.; Albuquerque, N.; Valverde, J.M.; Guillen, F.; Castillo, S.; Valero, D.; Serano, M. 2006. Postharvest sweet cherry quality and satefy maintenance by Aloe vera treatment: A new edible coating. *Postharvest Biol. Technol.* 39: 93-100.
- Namesny Vallespir, A. 1990. La pre-refrigeración de hortalizas y frutas. *Horticultura*. Vol: 60. pp 28-38.
- Neven, L.G. Y Drake, S.R. 2000. Comparison of alternative postharvest quarantine treatments for sweet cherries. *Postharvest Biol. Technol.* 20:107-114.
- Sekse, L. (1996). Cuticular fracturing in the cherry fruit-causes and consequences. *J. Exp. Bot.* 47 (Abstr. Suppl. May 1996):52.
- Serrano, M.; Guillen, F.; Martinez-Romero, D.; Castillo, S.; Guillen, F.; Valero, D. 2005. Chemical constituents and antioxidant activity of sweet cherry at different ripening stages. *J. Agric. Food Chem.* 53: 2741-2745.

Madrid 2012

Madrid 201

EFFECT OF CONTROLLED ATMOSPHERE PACKAGING ON QUALITY PROPERTIES OF 'AMBRUNÉS' SWEET CHERRIES

M.J. Serradilla¹, A. Martín², S. Ruiz-Moyano², D. González-Gómez³, M. López-Corrales¹ and M.G. Córdoba²

¹Centro de Investigación Finca La Orden-Valdesequera. Junta de Extremadura. Autovía Madrid-Lisboa s/n, 06187 Guadajira, Badajoz, Spain

²Nutrición y Bromatología, Escuela de Ingenierías Agrarias, Universidad de Extremadura, Avda. Adolfo Suárez s/n, 06071 Badajoz.

³ Departamento de Ciencias Analíticas, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Educación a Distancia, Paseo de la Senda del Rey, 28040 Madrid.

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effect of different controlled atmospheres storage, containing 3 % O₂ + 10% CO₂, 5 % O₂ + 10% CO₂ and 8 % O₂ + 10% CO₂, on quality properties of 'Ambrunés' sweet cherries throughout storage during 30 days at 1 °C with a RH of 95% in darkness. The results indicated that controlled atmosphere containing 8 % O₂ + 10% CO₂ was highly effective to stop the fruit deterioration, since cherries presented higher values for firmness, skin colour, and titratable acidity than control.

Keywords: Sweet cherries, fruit quality, controlled atmospheres, postharvest storage.

INTRODUCTION

The sweet cherry "Cereza del Jerte" is a high quality fruit of *Prunus avium* L. varieties. There are four recognized cultivars of "Picota" cherries, and the most widely studied is 'Ambrunés' because is the most important in terms of production (Serradilla et al., 2011).

During postharvest life, the application of cold storage is a necessary tool to maintain fruit quality till consumption (Bernalte et al., 2003) and therefore to guarantee the consumer's acceptability (Crisosto et al., 2003). However, the cold storage with high relative humidity only maintains the fruit quality during two weeks (Bernalte et al., 2003; Serrano et al., 2009). Controlled and modified atmospheres have also been recommended as ways of improving cherry marketability since it has been reported to be effective in delaying the physicochemical changes related to quality loss (Remón et al., 2000; Tian et al., 2004). Different O₂ and CO₂ concentrations have been reported to be optimal for different cherry cultivars, maintaining fruit quality and extending postharvest life of fruits (Remón et al., 2000; Alique et al., 2003; Tian et al., 2004). There is little information about the effect of controlled atmospheres for extending postharvest life of "Picota" type sweet cherries.

The objective of our research was to examine physicochemical changes occurring during storage in controlled atmospheres of Ambrunés' sweet cherries.

MATERIALS AND METHODS

The samples of sweet cherry (*Prunus avium* L.) used in this study were obtained from twelve-year-old sweet cherry trees of the ‘Ambrunés’ cultivar on *Prunus avium* L. rootstock from an experimental orchard at an altitude of 400 m above sea level in Cabrero (lat. 40° 06′ 40″ N, long. 5° 53′ 20″ W), the “Jerte Valley” (Cáceres, Spain). Fruits were harvested totally at random from multiple trees and transported to the distribution centre in less than 1 h. They were then hydro-cooled at a water temperature of 1 °C in a 1000 L immersion hydro-cooler equipped with a water recirculation system. Sodium hypochlorite was added to the water to achieve a chlorine concentration of 100 µL L⁻¹. Fruits (500 g) were packaged in polypropylene punnets and wrapped with macroperforated (mp) film with five holes (ø=9 mm). Storage conditions were as follows: control (under atmospheric conditions) and controlled atmospheres containing 3 % O₂ + 10% CO₂, 5 % O₂ + 10% CO₂ and 8 % O₂ + 10% CO₂. Punnets, except to control, were introduced in controlled atmosphere cabinets (530 dm³) mod Control-Tec Research, that available of an atmosphere analyzer controlled by software (Tecnidex, Valencia, Spain). Six batches of 4 punnets for each ripening stage were randomly selected and stored under controlled atmospheric conditions at 1 °C with a relative humidity (RH) of 95% in darkness, while eight control batches of 4 punnets for each ripening stage were stored under ordinary atmospheric conditions at 1 °C with a RH of 95% in darkness, during 30 days. The fruit quality were analysed immediately after the hydrocooling treatment (0 storage days), 15 storage days, 21 storage days, and 30 days of cold storage.

For physicochemical analysis, firmness and colour were measured in 25 sweet cherries from each punnet for each batch (n=4), as described in our previous work (Serradilla et al., 2011), using a TA.XT2i Texture Analyzer (Stable Micro Systems, Godalming, UK) and a CR-400 tristimulus colorimeter (Minolta, Tokyo, Japan), respectively.

Total soluble solids (TSS) and titratable acidity (TA) were measured for each independent homogenate per batch, obtained from 25 fresh pitted fruits from each punnet (n=4) and homogenised using an Omni Mixer homogeniser (Omni International, Marietta, GA, USA). TSS were measured using an automatic temperature-compensated DR101 digital refractometer (Optic Ivymen System, Barcelona, Spain). Results are expressed as °Brix. TA and pH were determined for each independent homogenate in 5 g aliquots diluted to 50 mL with de-ionized water from a Milli-Q water purification system (Millipore, Bedford, MA, USA). Analyses were conducted using a 716 DMS Titrino automatic titrator (Metrohm, Herisau, Switzerland). Samples were titrated with 0.1 mol L⁻¹ NaOH up to pH 8.1. Results are expressed as g malic acid per 100 g fresh weight (FW).

The maturation index (MI) was calculated as the ratio between TSS and TA.

Statistical analysis of the data was carried out using SPSS for Windows, version 15.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL). Mean values of the physicochemical parameters were studied by two-way analysis of variance (ANOVA) and separated by Tukey’s honestly significant difference test (p≤0.05).

RESULTS AND DISCUSSION

Firmness, besides of being a very important postharvest quality factor, is one of the chief characteristics that present ‘Picota’ cherries (Alique et al., 2005). Firmness values were higher in controlled atmospheres containing 5% O₂ + 10% CO₂ and 8% O₂ + 10% CO₂ than in control, showing significant differences, after 30 storage days. The highest firmness values were obtained at the end of the cold storage (Figure 1). This seems to be coherent with the results reported by Tian et al. (2004) who have reported that the fruit in controlled atmosphere conditions shown an increase in firmness after 20 days of storage.

Regarding colour, the darkening of colour was slower in cherries stored under controlled atmospheres than cherries stored under atmospheric conditions. Cherries stored under controlled atmosphere with 8% O₂ + 10% CO₂ presented L*, C*, and h* values higher than control after 30 storage days and therefore this controlled atmosphere retained a colour lighter due to a less anthocyanin accumulation (Mozetic et al., 2004). Alique et al. (2003) also obtained a light red colour for cherries wrapped in microperforated film. These results confirmed that controlled atmospheres were highly effective in maintaining the colour of ‘Ambrunés’ cherry.

The results for total soluble solids (TSS), titratable acidity (TA), pH, and maturation index (MI) are presented in Figure 1. For TSS, values were higher in controlled atmospheres than in control throughout storage during 30 days. Nevertheless, many researchers have reported that controlled or modified atmospheres with low O₂ and/or high CO₂ concentrations did not show a significant influence on TSS for other sweet cherry cultivars (Alique et al., 2003; Remón et al., 2003; Tian et al., 2004), although Conte et al. (2009) found that TSS decreased or was remained fairly stable for cherries stored under modified atmospheres. This fact would indicate that controlled atmospheres would have a positive effect on TSS and therefore on the ‘Ambrunés’ cherry quality. In addition, during storage time, it was observed that TSS values were significantly increased from 15 days of storage to 21 days of storage. Serrano et al. (2009) have also reported a significant increase during cold storage. All values obtained were above the limit of 14-16 °Brix suggested by Crisosto et al. (2003) as acceptable for marketing cherries.

With respect to TA and pH, cherries stored under controlled atmospheres presented TA values higher than control after 30 days of storage. These findings are consistent with those obtained by Alique et al. (2003), Remón et al. (2003) and Tian et al. (2004) who reported that cherries stored under modified atmospheres presented TA values higher than control. TA is used as indicator of potential storage quality for sweet cherries and the fact that TA values from cherries stored controlled atmospheres was higher than control indicated that controlled atmospheres slowed down the senescence process and the loss of fruit quality (Alique et al., 2003). During storage time, TA decreased for all treatments, except to the controlled atmosphere containing 8% O₂ + 10% CO₂. This seems to be coherent with the results reported by other authors (Bernalte et al., 2003; Remón et al., 2003; Alique et al., 2005; Serrano et al., 2009) who reported a TA decrease during storage.

With regard to pH, ‘Ambrunés’ cherries stored under controlled atmospheres containing 3 % O₂ + 10% CO₂, and 8 % O₂ + 10% CO₂ presented pH values lower than control at the end of storage. On the other hand, pH showed a trend of increase

Madrid 201

throughout of the cold storage, reaching the highest value after 30 days of storage. This increase was also observed by other authors (Remón *et al.*, 2003). In all cases, pH was within the limits pH 3 to 5 that promote the processes of copigmentation (Brouillard *et al.*, 1991).

MI (TSS/TA) is a parameter that is closely related to the cherry quality (Serrano *et al.*, 2009) and besides of being the most important parameter determining sweet cherry acceptability by consumers (Crisosto *et al.*, 2003). Among treatments, control showed differences with controlled atmospheres. Logically, control presented MI (TSS/TA) values higher than controlled atmospheres due to that controlled atmospheres presented TA values higher than control. This fact indicates that control fruit presented a more pronounced ripening development than cherries stored under controlled atmospheres. These findings are in agreement with those reported by Martínez-Romero *et al.* (2006).

CONCLUSIONS

‘Ambrunés’ sweet cherries stored under controlled atmosphere containing 8 % O₂ + 10% CO₂ showed firmness, skin colour, and TA values higher than control and therefore this controlled atmosphere was effective to stop fruit deterioration and to avoid the fruit quality loss. In addition, cherries stored under controlled atmospheres presented TSS values higher than control.

ACKNOWLEDGEMENTS

The work was supported by grant RTA2007-00096-C03 from the Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Ministerio de Educación y Ciencia (Spain). The authors are grateful to M. Cabrero and C. Cebrián for technical assistance and to Grupo Alba for technical support.

REFERENCES

- Alique, R., Martínez, M.A., Alonso, J. 2003. Influence of the modified atmosphere packaging on shelf life and quality of Navalinda sweet cherry. *Eur. Food Res. Technol.* 217, 416-420.
- Alique, R., Zamorano, J.P., Martínez, M.A., Alonso, J. 2005. Effect of heat and cold treatments on respiratory metabolism and shelf-life of sweet cherry, type picota cv ‘Ambrunés’. *Postharvest Biol. and Tec.* 35, 153-165.
- Bernalte, M.J, Sabio, E., Hernández, M.T., Gervasini, C. 2003. Influence of storage delay on quality of ‘Van’ sweet cherry. *Postharvest Biol. Technol.* 28, 303-312.
- Brouillard, R., Wingand, M. C., Dangles, O., Chemicat, A. 1991. pH and solvent effects on the copigmentation reaction of malvin with polyphenols, purine and pyrimidine derivatives. *J. Chem. Society, Perkin Transactions, 2*, 1235-1241.
- Conte, A., Scrocco, C., Lecce, L., Mastromatteo, M., Del Nobile, M.A. 2009. Ready-to-eat sweet cherries: Study on different packaging systems. *Innov. Food Sci. Emerg.* 10, 564-571.

Madrid 201

- Crisosto, C. H., Crisosto, G. M., Metheney P. 2003. Consumer acceptance of 'Brooks' and 'Bing' cherries is mainly dependent on fruit SSC and visual skin color. *Postharvest Biol. Technol.* 28, 159-167.
- Martínez-Romero, D., Albuquerque, N., Valverde, J.M., Guillén, F., Castillo, S., Valero, D., Serrano, M. 2006. Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by Aloe Vera treatment: A new edible coating. *Postharvest Biol. Technol.* 39, 93-100.
- Mozetic, B., Trebse, P., Simcic, M., Hribar, J. 2004. Changes of anthocyanins and hydroxycinnamic acids affecting the skin colour during maturation of sweet cherries (*Prunus avium* L.). *LWT-Food Sci. Technol.*, 37, 123-128.
- Remón, S., Ferrer, A., Marquina, P., Burgos, J., Oria, R. 2000. Use of modified atmospheres to prolong the postharvest life of Burlat cherries at two different degrees of ripeness. *J. Sci. Food Agr.*, 80, 1545-1552.
- Remón, S., Venturini, M.E., López-Buesa, P., Oria, R. 2003. Burlat cherry quality after long range transport: optimisation of packaging conditions. *Innov. Food Sci. Emerg.* 4, 425-434.
- Serradilla, M.J., Lozano, M., Bernalte, M.J., Ayuso, M.C., López-Corrales, M., González-Gómez, D. 2011. Physicochemical and bioactive properties evolution during ripening of 'Ambrunés' sweet cherry cultivar. *LWT-Food Sci. Technol.* 44, 199-205.
- Serrano, M., Díaz-Mula, H. M., Zapata, P. J., Castillo, S., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Valverde, J. M., Valero, D. 2009. Maturity stage at harvest determines the fruit quality and antioxidant potential after storage of sweet cherry cultivars. *J. Agr. Food Chem.* 57, 3240-3246.
- Tian, S.P., Jiang, A.L., Xu, Y., Wang, Y.S. 2004. Responses of physiology and quality of sweet cherry fruit to different atmospheres in storage. *Food Chem.* 87, 43-49.

Madrid 201

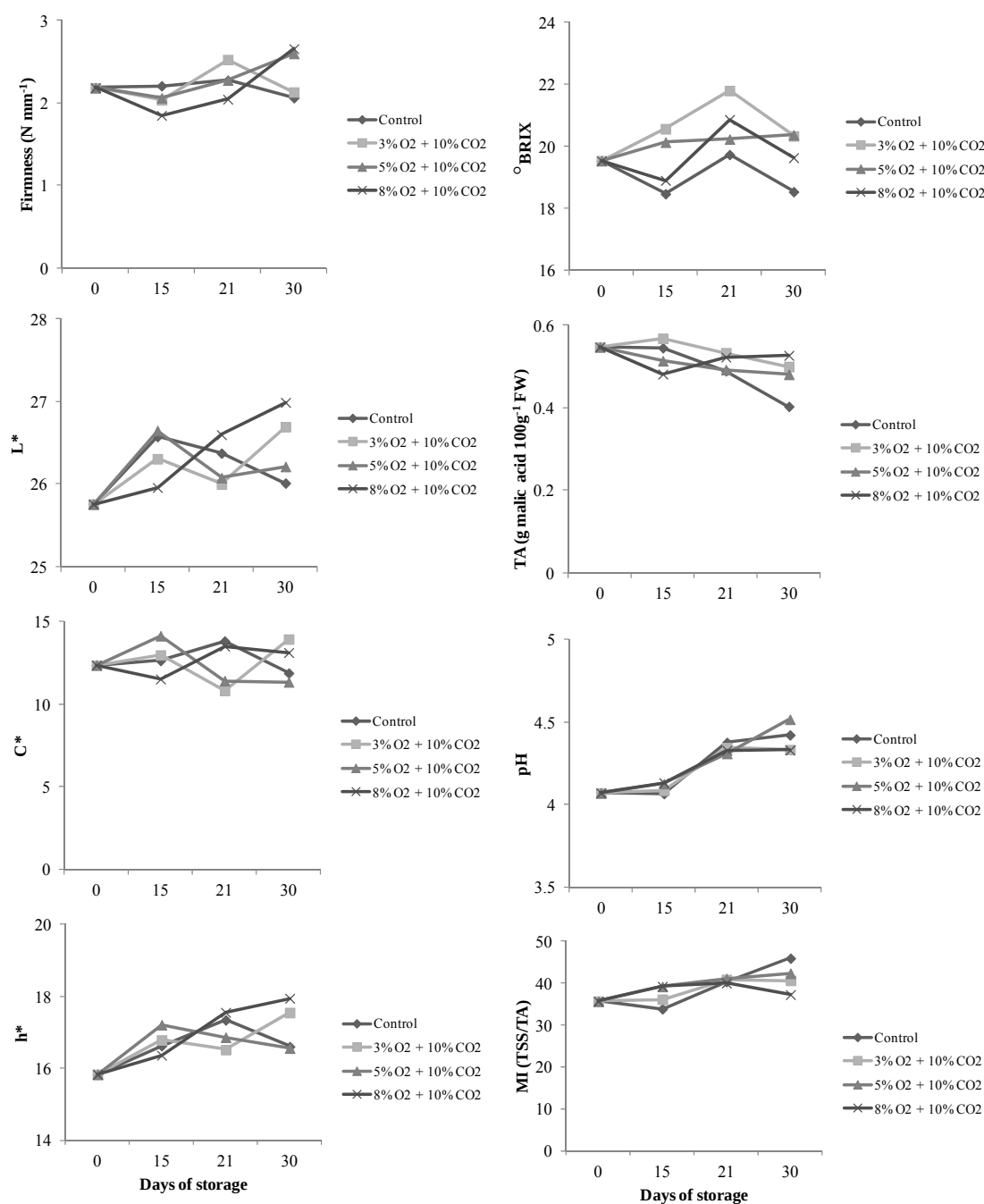


Figure 1. Evolution of physicochemical parameters during storage at 1 °C with a RH of 95% in darkness under different controlled atmospheric conditions at 1 °C with a RH of 95% in darkness under different controlled atmospheric conditions and under ordinary atmospheric conditions of 'Ambrunés' sweet cherry cultivar. Data are the mean.

Madrid 2012

CONSERVACIÓN DE CIRUELA EN ATMÓSFERA MODIFICADA GENERADA EN PALETS CON EMBALAJE MIXTO DE COPOLÍMERO Y SILICONA

Aguayo, E.¹; Escalona, V.²; Artés-Hernández, F.¹ y Artés F.¹

Grupo de Postrecolección y Refrigeración. Departamento de Ingeniería de Alimentos. Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48. 30203 Cartagena, Murcia, España. E-mail: fr.artes@upct.es Teléfono: +34-968-325510. Fax: +34-968-325433.

² Centro de Estudios Postcosecha, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santa Rosa 11315, La Pintana. Casilla 1004, Santiago Chile.

Resumen

El envasado en atmósfera modificada (EAM) permite generar condiciones óptimas para mantener la calidad y prolongar la vida comercial de la ciruela. La comercialización de este fruto así como su exportación intercontinental, incluyendo el transporte y la distribución, requiere una supervivencia en torno a un mes. Una posible alternativa más económica a las cámaras y contenedores de atmósfera controlada consiste en aplicar el EAM en los propios palets. Para lograrlo se ha recurrido a un sistema innovador de embalaje mixto, constituido por un copolímero de polietileno y aluminio y una ventana fabricada con una membrana de silicona que permite la difusión selectiva de los gases. En el presente trabajo se ha diseñado y montado un embalaje mixto a escala de palet estándar para generar y estabilizar en su interior concentraciones de O₂ y CO₂ idóneas para la conservación refrigerada de la ciruela Angeleno. Para ello se prepararon embalajes mixtos con ventanas de difusión de silicona de 40 y 80 dm². Con el referido EAM de palets conteniendo 850 kg de ciruelas en cajas de cartón, empleando el copolímero provisto de una ventana de 40 dm², desde la segunda semana de conservación a 0/1°C y 90/95% HR se alcanzaron de forma pasiva 5-7 kPa O₂ y 3-5 kPa CO₂. Esta composición gaseosa resultó muy adecuada para retener el color de fondo (luminosidad y Croma), la firmeza y los sólidos solubles de los frutos durante 35 días. Estos parámetros de calidad se mantuvieron en rangos adecuados incluso tras un periodo adicional de 4 días a 15°C y 60/70% HR, aplicado para simular la comercialización y venta al detalle. En consecuencia, el EAM diseñado puede ser una alternativa utilizable en la conservación a medio plazo en cámaras frigoríficas convencionales y en la exportación a larga distancia de la ciruela.

Palabras clave: Diseño de envases; color; sólidos solubles; firmeza; calidad.

INTRODUCCIÓN

Actualmente España es uno de los principales países productores de ciruela en el Hemisferio Norte y se continúan abriendo nuevos mercados, cada vez más alejados, en países del Este de Europa como Rusia y Polonia, así como en Asia, el Sur de África y América del Sur (en especial Brasil). Para que se comercialice con una calidad idónea satisfaciendo al consumidor, el fruto debe llegar al mercado al por menor con una óptima firmeza y contenido en azúcares. Para atender las necesidades de su exportación a larga distancia de la ciruela se requiere una supervivencia comercial de alrededor de un mes, tiempo necesario para regular los envíos y cubrir el transporte y la distribución.

Madrid 2012

La supervivencia comercial postcosecha de la ciruela depende de la variedad y temperatura de transporte y/o conservación. La mayoría de las variedades de ciruela son susceptibles a daños por frío al almacenarse a 5°C o menos. La modificación de la composición normal del aire mediante la atmósfera controlada (AC) o el envasado en atmósfera modificada (EAM), puede proporcionar unas concentraciones gaseosas que permiten prolongar la conservación asegurando una calidad del producto óptima. . Además, el mantenimiento de una atmósfera saturada en vapor de agua, propia del EAM, aumenta la tolerancia a las bajas temperaturas y reduce o inhibe ciertos daños por frío. Las concentraciones recomendadas para la ciruela son de 2-3 kPa O₂ y 3-5 kPa CO₂ (Kader, 2003), aunque su eficacia se relaciona con la variedad, factores precosecha y duración de la conservación. Una alternativa a los costosos contenedores o cámaras de AC, consiste en aplicar el EAM a los palets enteros mediante embalajes mixtos que cuentan con un sistema de ventana de difusión fabricadas con un elastómero de silicona (Artés, 1976, 1993; Escalona et al., 2003; Marcellin, 1974).

El objetivo del presente trabajo consistió en estudiar la eficacia de un EAM con embalaje mixto para palets a escala industrial, efectuando el diseño de la membrana de silicona con un modelo matemático, para generar unas concentraciones gaseosas idóneas y prolongar alrededor de un mes la conservación en fresco de la ciruela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El material vegetal fue ciruela (*Prunus salicina*) de la variedad Angeleno originaria de EEUU, con fruto de tamaño mediano, forma redondeada y aplanada, color de piel rojo oscuro violáceo y pulpa de color amarilla. Las ciruelas se cultivaron bajo un clima mediterráneo, se recolectaron en una explotación comercial de Abarán (Murcia), se transportaron unos 30 km hasta un almacén de exportación donde se calibraron automáticamente. Los frutos se seleccionaron por su calibre, descartándose los que presentaban lesiones por golpes y/o rozaduras o alteraciones. Se envasaron en cajas de cartón (40 x 60 x 10cm) y se mantuvieron a 0/1°C hasta el día siguiente en que se paletizaron en la misma cámara de conservación (0/1°C y 95% HR), formando un palet de 170 cajas de 5 kg cada una (850 kg).

Diseño del embalaje mixto

Sobre la base del palet (1 m x 1,20 m), antes de conformarlo, se colocó la superficie correspondiente de una película plástica constituida por un copolímero de polietileno recubierto con una capa de aluminio (Société Coopérative GPLM, Creances, Francia) y, seguidamente se dispusieron las cajas. Posteriormente, todo el palet fue cubierto con dicho copolímero, muy poco permeable, que se termoselló con el de la base a 200 °C (Parker, model IS/300H). Para lograr el intercambio gaseoso y alcanzar las concentraciones deseadas en el interior del embalaje mixto, se recortó una superficie rectangular apropiada de la parte superior del mismo y se reemplazó por una “ventana” de difusión en elastómero de silicona que se pegó mediante un adhesivo a la superficie. En consecuencia, la difusión de gases tuvo lugar por permeación exclusivamente a través de la membrana de silicona. El modelo matemático empleado para el diseño del área de difusión se resume como sigue (Marcellin, 1974; Artés, 1976, 1993).

Madrid 2012

Para obtener una atmósfera gaseosa de equilibrio (CO_2 y O_2) en el interior del embalaje mixto cerrado herméticamente (envase) conteniendo el palet con el producto vegetal, deben cumplirse unas condiciones de equilibrio. La emisión total de CO_2 por los frutos debe igualarse al flujo de CO_2 que sale a través del envase. Por tanto, el flujo de CO_2 emitido por el fruto ($J_{\text{fruto } \text{CO}_2}$) tiene que igualarse al flujo de CO_2 que sale a través del envase ($J_{\text{mb } \text{CO}_2}$) de área A, que deseamos averiguar. De la misma forma, para el O_2 debe cumplirse que la absorción total de O_2 por el producto ($J_{\text{fruto } \text{O}_2}$) en su respiración tiene que igualarse al flujo de O_2 que entra a través del envase ($J_{\text{mb } \text{O}_2}$) de área A.

- 1) Para el caso del CO_2 , debe cumplirse:

$$J_{\text{CO}_2 \text{ fruto}} = J_{\text{CO}_2 \text{ mb}}$$

$$\text{TR}_{\text{CO}_2} \cdot M = P_{\text{CO}_2} \cdot A \cdot ([\text{CO}_2]_{\text{envase}} - [\text{CO}_2]_{\text{aire (atmósfera)}}) \cdot 1/24$$

- 2) De la misma forma, para el O_2 :

$$J_{\text{O}_2 \text{ fruto}} = J_{\text{O}_2 \text{ mb}}$$

$$\text{TR}_{\text{O}_2} \cdot M = P_{\text{O}_2} \cdot A \cdot ([\text{O}_2]_{\text{aire (atmósfera)}} - [\text{O}_2]_{\text{envase}}) \cdot 1/24$$

donde,

TR: Tasa respiratoria del fruto expresado en mL CO_2 ó $\text{O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$

M: Masa de ciruelas en kg

P: Permeabilidad de membrana de silicona al CO_2 ó O_2 expresada en $\text{mL dm}^2 \text{ día}^{-1} \text{ atm}^{-1}$

A: Área de la membrana de silicona (ventana) en dm^2

$[\text{CO}_2]$ ó $[\text{O}_2]$: concentración de CO_2 ó O_2 en atm.

1/24: Factor de conversión de días a horas.

De todos estos parámetros, la TR es de $1,5 \text{ mL CO}_2$ ó $\text{O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Crisosto y Kader, 2000), se asume la unidad como cociente respiratorio de 3 la ciruela (Fonseca et al., 2002), 850 kg es la masa de ciruelas en el palet, el límite máximo en la concentración de CO_2 será 5 kPa (para evitar riesgos de daños) y la concentración mínima de O_2 (para evitar riesgos de anaerobiosis) será 2 kPa. Según resultados previos en otras frutas, las características de difusión de este tipo de membrana de silicona son de $11.200\text{-}14.000 \text{ CO}_2 \text{ mL dm}^2 \text{ día}^{-1} \text{ atm}^{-1}$ y de $4.300\text{--}4.500 \text{ mL O}_2 \text{ dm}^2 \text{ día}^{-1} \text{ atm}^{-1}$ a 0°C (Artés, 1976). Sustituyendo los valores en las distintas ecuaciones, se procederá a calcular el área de la membrana de silicona necesaria para satisfacer las condiciones establecidas de diseño.

$$A = (\text{RCO}_2 \cdot M) / (P_{\text{CO}_2} \cdot [\text{CO}_2]_{\text{envase}} \cdot 1/24)$$

$$A = [1,5 \text{ mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1} \cdot 850 \text{ kg}] / [12.600 \text{ mL CO}_2 \text{ dm}^2 \text{ d}^{-1} \text{ atm}^{-1} \cdot 0,05 \cdot 1 \text{ d} / 24\text{h}]$$

$$\text{de donde } A = 48,6 \text{ dm}^2$$

$$A = (\text{RO}_2 \cdot M) / (P_{\text{O}_2} \cdot ([\text{O}_2]_{\text{aire (atmósfera)}} - [\text{O}_2]_{\text{envase}}) \cdot 1/24)$$

Madrid 2012

$$A = [1,5 \text{ mL O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1} * 850 \text{ kg}] / [4.400 \text{ mL O}_2 \text{ dm}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ atm}^{-1} * (0,21 - 0,02) * 1 \text{ d} / 24 \text{ h}]$$

$$\text{de donde } A = 36,8 \text{ dm}^2$$

Por tanto, la dimensión de la ventana de membrana de silicona para alcanzar las concentraciones de CO₂ y O₂ deseadas, debería ser de 36,8 y 48,6 dm², respectivamente. En consecuencia, para simplificar el diseño se seleccionó como dimensión final una superficie de 40 dm², a la que se llamará seguidamente ventana pequeña (VP). Para evitar una posible acumulación excesiva de CO₂, también se prepararon palets con ventanas de 80 dm². A este tratamiento se le llamará ventana grande (VG). Las concentraciones gaseosas que se alcanzarían en ambos tratamientos, según el modelo matemático antes descrito, serían para la VP de 6 kPa CO₂ y 3,5 kPa O₂ y para la VG de 3 kPa CO₂ y 12 kPa O₂.

Las experiencias se llevaron a cabo con 9 palets de tipo industrial, con tres repeticiones para el diseño con VP, otros tres para la VG y otros tres como testigo (cubiertos con el mismo copolímero, pero sin termosellar). La conservación se prolongó 35 días a 0/1°C y 95% HR, seguidos de un periodo de comercialización simulada de 4 días a 15°C.

Evaluaciones

▪ Evolución gaseosa en el interior del palet

De forma periódica, con un analizador de gases portátil (Checkpoint, PBI, DanSensor, Berlín, Alemania) se determinaron las concentraciones de CO₂ y de O₂. Para evitar fugas, la toma de muestra se efectuó a través de un septum de silicona.

▪ Firmeza

Con un penetrómetro manual con 8 mm de diámetro del émbolo (Fruit Pressure Tester, FT 327, Italia) se evaluó la firmeza en la zona ecuatorial en las dos caras opuestas del fruto. En general, las ciruelas con una firmeza en pulpa de 10 N (ó 1 kg-fuerza) se consideraron adecuadas para el consumo (Crisosto y Kader, 2000).

▪ Color

El color se determinó sobre tres puntos de la superficie ecuatorial del fruto con un colorímetro (Minolta CR300, Ransey, N.J.), expresándose en los parámetros L*, b* y Croma (CIELab).

▪ Contenido en sólidos solubles totales (SST).

A partir de la perforación realizada con el penetrómetro manual sobre las caras ecuatoriales del fruto se obtuvo una muestra de zumo (presionando y obteniendo el necesario). La muestra se analizó empleando un refractómetro manual (Atago N1, Tokio, Japón) a 20°C. Los resultados se expresaron en °Brix.

▪ Análisis estadísticos.

Para los tres parámetros, firmeza, color y SST, se realizaron 20 determinaciones por palet tomando al azar 5 frutos por caja escogidas también al azar. En total se efectuaron 60 repeticiones por tratamiento.

Madrid 2012

Para cada periodo (conservación y comercialización) se realizó un análisis de la varianza ($p < 0,05$) y cuando existieron diferencias significativas entre tratamientos, éstas se sometieron a una prueba de rango múltiple de mínimas diferencias significativas (LSD).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al final del periodo de conservación, la concentración final alcanzada fue de 4 kPa CO₂ y 11 kPa O₂ para los palets con VG y de 6 kPa CO₂ y 6 kPa O₂ para los palet con VP (Fig. 1). Las concentraciones gaseosas obtenidas en los palets con VP fueron bastante similares a las calculadas con el modelo matemático, como sucedió en experiencias anteriores con pimientos (Escalona *et al.*, 2003) y próximas a los 3 - 5 kPa de CO₂ y 2 - 3 kPa de O₂ que se recomiendan (Kader, 2003). Como era de esperar, en el interior de los palets con VG las concentraciones de CO₂ fueron menores y las de O₂ mayores a las registradas en los palets con VP.

La concentración de 6 kPa CO₂ y 6 kPa O₂ retuvo la firmeza durante el periodo de conservación y posterior comercialización (Tabla 1). A pesar de que durante el periodo de conservación las ciruelas mantenidas en palets con VG presentaron una mayor firmeza que el testigo, estas diferencias no fueron significativas tras el periodo de comercialización. Por tanto una atmósfera con un bajo nivel de CO₂ y O₂ mantiene la firmeza de las ciruelas tras 35 días a 0°C y 4 días a 15°C en aire.

Las ciruelas mantenidas en AM, tanto en los palets con VG como con VP, presentaron una menor concentración en SST que el testigo, sin duda debido a una menor actividad metabólica como consecuencia del EAM y lo que retardó los procesos de maduración asociados a la síntesis de azúcares simples (Tabla 1). De la misma forma, del estudio de los parámetros de color se deduce que las ciruelas testigo mostraron una mayor maduración, con un incremento en el parámetro b* y en la saturación del color (Croma), tanto durante el periodo de conservación como de comercialización (Tabla 2). Por tanto, el EAM retardó el cambio de color de fondo en las frutas mantenidas en palets tanto con VG como con VP.

No se observaron daños por frío en ninguno de los tratamientos efectuados.

CONCLUSIÓN

Las concentraciones gaseosas generadas mediante el diseño de un EAM con embalaje mixto provisto de ventana de difusión de silicona se ajustaron a las previstas en un modelo matemático. Este envasado realizado sobre un palet de ciruela Angeleno permitió que una ventana de silicona con un área de difusión de 40 dm² generara una atmósfera de 6 kPa O₂ y 6 kPa CO₂, que resultó idónea para retener la firmeza, el color y los SST de las ciruelas a niveles adecuados para su comercialización.

De los resultados se concluye que la vida comercial de esta variedad de ciruela se puede prolongar 35 días a 0°C utilizando este sistema de EAM con embalaje mixto a escala industrial, tanto para el transporte marítimo como para la conservación en cámaras convencionales de refrigeración.

Madrid 2012

Se deberán estudiar nuevas combinaciones de masa y superficie de membrana de difusión, u otros tipos de membranas, para generar otras concentraciones gaseosas por si podrían optimizar mejor la calidad final de las ciruelas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Societé Coopérative GPLM (Créances, Francia) la financiación mediante un contrato de investigación y a Frutas Esther S.A. (Abarán, Murcia, España) el suministro de la fruta e instalaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Artés, F. 1976. Estudio y aplicación de membranas de polímeros para generar y estabilizar atmósferas modificadas. CEBAS-CSIC, Murcia. 249 p.
- Artés, F. 1993. Diseño y cálculo de polímeros sintéticos de interés para la conservación hortofrutícola en atmósfera modificada. En: Nuevo Curso de Ingeniería del Frío. Ed. Colegio Oficial de Ingenieros Agrónomos. Editor: A. Madrid Vicente. 2ª Edic. Madrid. 427-453.
- Escalona, V.H., Aguayo, E., Artés-Hernández, F., Artés, F. 2003. Designing a diffusion membrane system for modified atmosphere storage of fruits and vegetables at pallet scale. The case of bell pepper. XXI Inter. Congress Refrigeration. International Institute of Refrigeration, Washington DC, USA. CD Rom.
- Crisosto, C.H. y Kader, A.A. 2000. Plum and fresh prune. Postharvest quality maintenance guidelines. Pomology Department. University of California. www.uckac.edu/postharv/pdf.
- Fonseca, S.C., Oliveira, A.R. y Brecht, J.K. 2002. Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. J Food Eng 52: 99-119.
- Kader, A.A. 2003. A summary of CA requirements and recommendations for fruits other than apples and pears. En: Oosterhaven, J. y Peppelombos, H.W. (Eds), Proc 8th Inter. CA Conference. Acta Horticulturae 600, 2, 737-740.
- Marcellin, P. 1974. Conservation des fruits et légumes en atmosphère contrôlée a l'aide de membranes de polymers. Rev. Gen. Froid 3 : 217-263.

Madrid 2012

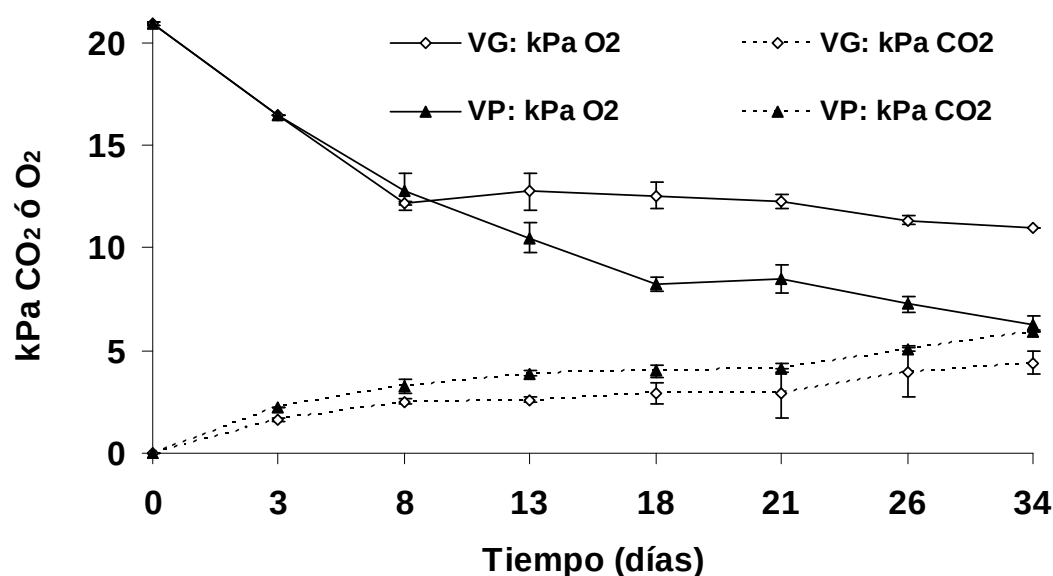
Figuras

Figura 1. Evolución de las concentraciones de CO₂ y O₂ en el interior de los palets de ciruelas Angeleno envasados en atmósfera modificada durante 35 días a 0/1°C. Palet VG: ventana de difusión de 80 dm². Palet VP: ventana de difusión de 40 dm².

Tablas

Tabla 1.- Evolución de la firmeza y SST de ciruelas Angeleno conservadas en atmósfera modificada o aire (testigo) durante 35 días a 0/1°C y tras 4 días más a 15°C y 60-65% HR.

		Firmeza (kg)	SST (°Brix)
Inicial		4,31 ^z ± 0,20	13,00 ± 0,24
35 d 0°C	Testigo	3,56 b	13,94 a
	Palet VG	4,01 a	13,04 b
	Palet VP	4,31 a	13,22 b
35 d 0°C + 4 d a 15°C	Testigo	3,76 b	14,01 a
	Palet VG	3,94 b	13,26 b
	Palet VP	4,29 a	13,36 b

^z Para cada periodo de conservación, columnas seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes ($P < 0,05$) según la prueba de rango múltiple de mínimas diferencias (LSD). Valores son la media ($n = 60$). Palet VG: ventana grande de difusión (80 dm²). Palet VP: ventana pequeña de difusión (40 dm²)

Madrid 2012

Tabla 2.- Evolución del color de ciruelas 'Angeleno' conservadas en atmósfera modificada o aire (control) durante 35 días a 0/1°C y tras 4 días más a 15°C y 95% HR.

		L*	b*	Chroma
Inicial		30,90 ^Z ± 0,42	3,42 ± 0,56	13,97 ± 1,00
35 d 0°C	Testigo	33,52 a	5,02 a	19,31 a
	Palet VG	30,91 b	3,16 b	13,68 b
	Palet VP	32,37 ab	2,98 b	13,99 b
35 d 0°C + 4 d a 15°C	Testigo	34,25 a	6,30 a	21,63 a
	Palet VG	32,37 b	4,58 b	17,10 b
	Palet VP	33,18 ab	4,31 b	16,51 b

^Z Para cada periodo de conservación, columnas seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes ($P < 0,05$) según la prueba de rango múltiple de mínimas diferencias (LSD). Valores son la media ($n = 60$). Palet VG: ventana grande de difusión (80 dm²). Palet VP: ventana pequeña de difusión (40 dm²)

Madrid 2012

SWEET CHERRY FRUIT QUALITY IS MAINTAINED BY VACUUM INFILTRATION OF ALOE VERA GEL DURING POSTHARVEST STORAGE

Valero D.¹, Serrano M.², Martínez-Romero D.², Castillo S.¹, Guillén F.¹, Zapata P.J.¹, Díaz-Mula H. M.¹, Valverde J.M.¹

¹Dept. Food Technology. ²Dept. Applied Biology. University Miguel Hernández Ctra. Beniel km. 3.2 03312 Orihuela, Alicante, Spain

Abstract

Although sweet cherry is a non-climacteric fruit it is considered as perishable with a reduced shelf life, and then refrigeration under proper temperature is not enough to delay the quality losses and prolong the storability. For this reason in this work commercial *Aloe vera* gel at several concentrations (0, 33, 66 and 100 % v/v) was used for postharvest treatment through vacuum impregnation at 0.2 mbar for 5 min on 'Skeena' sweet cherry. Following treatments fruit were stored at 2°C and RH 90%. Samples were taken from chamber at regular intervals and quality traits were determined. Results showed that *Aloe vera* gel was able to delay the postharvest ripening process of sweet cherry fruit by retarding weight loss, colour changes, firmness loss, the increase of total soluble solids, and the decrease in total acidity. In addition, respiration rate and ethylene production was also delayed. For most of quality parameters the effect was concentration-dependent. Overall, results suggest that *Aloe vera* gel at 100% was the best concentration to maintain postharvest quality of sweet cherry.

Keywords: *Prunus avium*, *Aloe*, respiration rate, ethylene, firmness, quality, postharvest

INTRODUCTION

The leaf mesophyll and exudate of *Aloe* spp. probably share an equally long use history, yet the mesophyll has been known only in contemporary trade. Today, the use of leaf exudate is waning in the United States and Europe due to concerns for safety. In contrast, there appears to be an increasing demand for the leaf mesophyll as an ingredient in a broad range of manufactured products such as patent remedies, foods and food supplements, toiletries, beauty products and household commodities.

In previous works, our research group has demonstrated the efficacy of *Aloe vera* gel as edible coating for fresh fruit and vegetables and filled the patent for this use (Martínez-Romero et al., 2003). In this sense, postharvest application of *Aloe vera* gel was effective on maintaining quality parameters during storage of table grape (Valverde et al., 2005) and sweet cherry (Martínez-Romero et al., 2006). In addition, pre-harvest treatment of table grapes reduced the microbial spoilage at harvest and during postharvest storage (Castillo et al., 2010).

However, almost no evidences exist about the use of *Aloe vera* gel as postharvest treatment on stone fruit, such as sweet cherry. Thus, the aim of this work was to study the effect of *Aloe vera* gel applied as vacuum impregnation on sweet cherry during postharvest storage. Sweet chery fruits are characterised by high incidence of fruit decay due to occurrence of several plant pathogenic fungi.

MATERIAL AND METHODS

Plant material and experimental design.

Commercial *A. vera* gel (food grade) was purchased from AVISA (Aloe Vera Internacional Sociedad Anónima, Fuerteventura, Canary Islands, Spain). Fresh gel was obtained under aseptic conditions using the mucilaginous part of the leaf and immediately shipped to the laboratory under cold conditions. On the other hand, 'Skeena' sweet cherry (*Prunus avium* L.) fruits were harvested at commercial ripening stage, transferred at laboratory and then selected homogeneous lots of fruits for the following treatment: *Aloe vera* gel at 0% (control) and *Aloe vera* gel at 33, 66 and 100% (diluted with distilled water) under vacuum impregnation at 200 mbar. After treatments, fruit were stored under cold conditions and sampled at regular intervals for the following analytical determinations: weight loss, colour, firmness, total soluble solids, total acidity, ethylene production and respiration rate.

Analytical determinations.

The ethylene production and respiration rate were measured by placing each replicate in a 2-L glass jar hermetically sealed with a rubber stopper for 30 min. For ethylene quantification (in duplicate) 1mL of the atmosphere was withdrawn with a gas syringe and then injected into a ShimadzuTM GC-2010 gas chromatograph (Díaz-Mula et al., 2011). Fruit firmness was measured for each fruit, with a force that achieved a 3% deformation. Results were expressed as the force-deformation (N mm^{-1}) and were the mean $\pm$ SE ($n = 24$). Colour was determined using the CIE Lab System in a Minolta colorimeter CR200 model. The fruit was peeled and a flesh tissue portion was taken along the equatorial fruit zone, in which total soluble solids (TSS) and total acidity (TA) were determined in duplicate. TSS concentration was determined with a digital refractometer Atago PR-101 TA (g of malic acid equivalent per 100 g⁻¹ fresh weight) was determined by automatic titration (785 DMP Titrino, Metrohm). The ratio between soluble solids concentration and titratable acidity was considered as a ripening index (RI). Experimental data were subjected to ANOVA analysis. Sources of variation were treatments and storage. The overall least significant differences (Fisher's LSD procedure, $p < 0.05$) were calculated and used to detect significant differences among packages and storage time. Values of LSD are showed in figures. All analyses were performed with SPSS software package v. 11.0 for Windows (SPSS, 2001).

RESULTS AND DISCUSSION

The results are shown in Tables. With respect to weight loss, both control and treated fruits showed a similar behaviour, that is a progressive increase in the percentage of weight loss along storage. However, control fruits exhibited significantly higher weight losses than *Aloe*-treated fruits, in which as concentration of *Aloe* increased lower weight loss was obtained, the reduction being dose-dependent.

Fruit firmness is considered one of the most important parameters related to fruit quality. As expected, after harvesting sweet cherry fruits showed an accelerated softening process in control fruits, while the treatments with *Aloe vera* gel led to

Madrid 2012

maintenance of fruit firmness at higher levels during storage. For this parameter, the reduction of the softening process was also dependent on the *Aloe vera* gel concentration.

Colour, expressed as Hue angle, showed also a significant decrease along storage in control fruits reaching the lowest levels at the end of the experiment. The application of *Aloe vera* gel induced lower colour changes during storage, the best colour retention being obtained for those fruits treated at 100%.

Total soluble solids (TSS) and total acidity (TA) are those parameters related to flavour and taste. TSS at harvest increased over storage, the increase being higher for control fruits, while a delay on this increase was obtained for *Aloe vera* gel treated peaches and sweet cherry. On the contrary, for TA a decrease was observed for control fruits while a delay on this decrease was shown for treated fruits. For both parameters a positive relationship was found between the delay on the evolution of both parameters and *Aloe vera* gel concentration.

When physiological parameters were analysed, the application of *Aloe vera* gel led to a significant reduction on ethylene production, the delay being related to the increased *Aloe vera* gel concentration.

Similarly, respiration rate initially decreased, due to the effect of cold refrigeration, but increased progressively during storage, the increase being higher for control than for *Aloe*-treated fruits, in sweet cherries.

These results clearly demonstrated that *Aloe vera* gel delayed the postharvest ripening process on sweet cherry. In non-treated fruits, ethylene production and respiration rate increased from the first sampling date till the end of storage and the application of *Aloe vera* gel (with effect being dose-dependent) led to lower rates of both physiological traits, in accordance with previous reports in which reduced respiration rate has been observed in *Aloe vera* gel coated-sweet cherry and table grapes, a non-climacteric fruits (Valverde et al., 2005; Martínez-Romero et al., 2006). In 'Arctic Snow' nectarines, Ahmed, et al, (2009) also observed reductions in ethylene production and respiration rate at ambient temperature. The reduced respiration rate in sweet cherries could be attributed to the fact that coating could increase resistance of fruit skin to gas diffusion and the creation of a modified internal atmosphere, since it is known that MAP could reduce the ethylene production and respiration rate due to high CO₂ and low O₂ gas inside the tissues (Valero and Serrano, 2010).

Postharvest storage of fruit is accompanied quality losses manifested by weight loss, reduction of firmness, colour changes, TSS and TA, among other parameters. *Aloe vera*, as an edible coating, was also effective in reducing the transpiration process and softening in sweet cherry and table grape during storage, and then lower weight loss and higher fruit firmness were obtained (Martínez-Romero et al., 2006; Valverde et al., 2005).

Several mechanisms have been proposed to explain the lower weight loss and firmness maintenance in fruits, including reduction in gas diffusion through the fruit skin and the delay of fruit metabolism by reducing respiration rate and ethylene emission (Valero and Serrano, 2010).

Changes in fruit texture are due to changes in the chemistry of middle lamella and primary cell wall components, which are accompanied by degradation of pectic

Madrid 2012

polysaccharides by enzymes capable of altering cell wall texture, such as pectinmethylesterase, endo- and exo-polygalacturonase, cellulose and β -galactosidase. In this sense, the effect of *Aloe vera* coating on reducing the activity of these enzymes could not be discharged, although further studies are necessary to confirm this hypothesis.

CONCLUSIONS

In conclusion, it has been demonstrated that *Aloe vera* gel could be considered as a good coating in reducing the ripening process by a significant delay in respiration rate, ethylene production, weight loss, colour and softening. The best results were obtained with Aloe applied at 100%.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work has been co-funded by MICINN (Spanish Ministry of Science and Innovation) through project AGL2009- 10857 and European Commission with FEDER funds.

LITERATURE CITED

- Ahmed, M.J., Singh, Z., Khan, A.S. 2009. Postharvest *Aloe vera* gel-coating modulates fruit ripening and quality of 'Arctic Snow' nectarine kept in ambient and cold storage. *International Journal of Food Science and Technology* 44, 1024-1033.
- Castillo, S., Navarro, D., Zapata, P.J., Guillén, F., Valero, D., Serrano, M., Martínez-Romero, D. 2010. Antifungal efficacy of *Aloe vera* in vitro and its use as a preharvest treatment to maintain postharvest table grape quality. *Postharvest Biology and Technology*. 57, 183-188.
- Díaz-Mula, H.M. Zapata, P.J. Guillén, F., Valverde, J.M., Valero, D., Serrano, 2011. Modified atmosphere packaging of yellow and purple plum cultivars. 2. Effect on bioactive compounds and antioxidant activity. *Postharvest Biology and Technology* 61, 110-116.
- Martínez-Romero, D., Albuquerque, N., Valverde, J.M., Guillén, F., Castillo, S., Valero, D., Serrano, M. 2006. Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by *Aloe vera* treatment: A new edible coating. *Postharvest Biology and Technology* 39, 93-100.
- Martínez-Romero, D., Serrano, M., Valero, D., Castillo, S. 2003. Aplicación de *Aloe vera* como recubrimiento sobre frutas y hortalizas. SP Patent filed 200302937, 2003.
- Valero, D., Serrano, M., 2010. *Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality*. CRC-Taylor & Francis, Boca Raton.

Madrid 2012

Valverde, J.M., Valero, D., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., Serrano, M. 2005. Novel edible coating based on Aloe vera gel to maintain table grape quality and safety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 7807-7813.

Tables

Table 1. Values at harvest and after 40 days of storage on sweet cherries treated with different *Aloe vera* gel concentration.

	Control	Aloe 33%	Aloe 66%	Aloe 100%
Weight Loss				
Day 0	-	-	-	-
Day 28	8.34±0.27a	8.22±0.68a	6.95±0.18b	5.57±0.44c
Firmness				
Day 0	5.28±0.09			
Day 40	3.04±0.05a	3.22±0.04a	3.27±0.04a	3.26±0.04a
Ethylene				
Day 0	0.02±0.001			
Day 28	0.02±0.006a	0.009±0.003a	0.008±0.002a	0.006±0.003a
Respiration rate				
Day 0	38.68±2.62			
Day 28	37.12±0.68a	31.10±0.65b	30.02±1.26b	28.06±1.01b
Colour				
Day 0	27.03±0.19			
Day 28	22.18±0.41a	24.53±0.21b	23.76±0.43b	25.64±0.12a
°Brix				
Day 0	15.34±0.30			
Day 28	18.15±0.22a	16.01±0.13b	16.58±0.17b	15.60±0.16a
Acidity				
Day 0	0.92±0.02			
Day 28	0.55±0.02a	0.59±0.01a	0.61±0.01a	0.70±0.01b

Desinfección eficaz de cámaras y centrales hortofrutícolas

**GLOCUAT PC
+
NEBULIZADOR X3**

International Symposium on
Plum and Sweet Cherry;
25 Octubre 2012

CITROSOL
ADVANCED POSTHARVEST SOLUTIONS

CITROSOL
ADVANCED POSTHARVEST SOLUTIONS

CITROSOL

- Nos dedicamos a la tecnología y productos químicos para la post-cosecha de cítricos y otras frutas
- Ventas anuales de 13-14 millones de €
- 35 % de las ventas en exportación
- Desde el inicio de la actividad en los años 60 la empresa siempre ha intentado aportar soluciones mediante la I+D+i
- Líderes en Desarrollo de Nuevos Productos, en calidad, en valor añadido
- Importante incremento de ventas en 2011 y 2012

El mantenimiento de la higiene de la central hortofrutícola (CH) es imprescindible para el control del podrido en frutas y hortalizas.

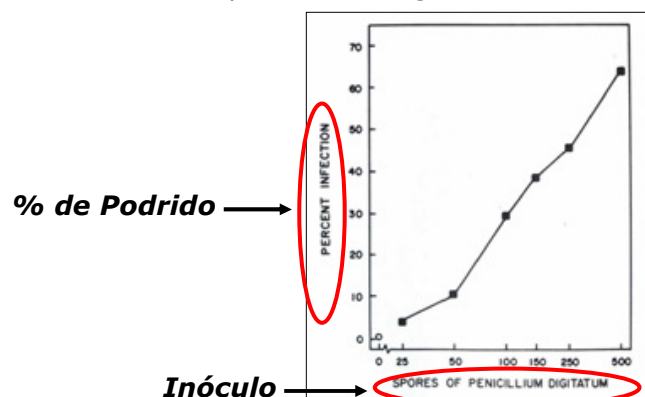
El establecimiento y mantenimiento de un correcto programa de L+D (*Limpieza y Desinfección*) de la central conduce a una sensible mejora en los resultados de control del podrido y a evitar el riesgo de contaminaciones cruzadas por microorganismos patógenos para la salud humana.

Entre los beneficios que aporta a la CH un correcto plan de L+D, se pueden destacar:

- **Disminución de la cantidad de inóculo** en la central.
- **Disminución del riesgo de aparición de resistencias** a los fungicidas utilizados.
- **Disminución de la cantidad de esporas fúngicas de patógenos no controlados** por los fungicidas de uso postcosecha.
- **Contribuye al mantenimiento de maquinaria y equipos**, evitando fenómenos de corrosión o averías por acumulación de residuos físicos o químicos.

Disminución de la cantidad de inóculo

*Porcentaje de infección en heridas de naranjas en función del número de esporas de *P. digitatum*.*



Eckert J. W., Eaks T.L. 1984. The Citrus Industry, Vol. V. U. California DANR

No obstante a la higiene de la CH no siempre se le ha prestado, y se le presta, la debida atención.

Este hecho se debe en gran medida a dos razones:

- **Los beneficios que la higiene puede aportar a una central no son fácilmente cuantificables.**
- **Falta de equipos (y productos) sencillos, económicos y eficaces.**

El binomio *Glocuat PC + Nebulizador X3* es una importante innovación para la resolución de esta problemática.

GLOCUAT PC:

- Desinfectante BIOCIDA de amplio espectro. Combina dos amonios cuaternarios que elevan su eficacia y amplían su espectro de acción.
- Especialmente formulado para la desinfección de ambientes y superficies vía aérea mediante el uso del **Nebulizador X3**.
- Producto "*listo para usar*".
- Elevada eficacia aún en presencia de materia orgánica.
- Plazo de seguridad 12 horas sin necesidad de aclarado posterior.

NEBULIZADOR X3:

- Dispositivo sencillo y de fácil funcionamiento para la nebulización en frío.
- Versátil: equipo móvil, se puede utilizar en diferentes zonas de la CH.
- Permite establecer un cómodo modelo de desinfección secuencial de la CH.
- Desinfección eficaz, fácil y económica.
- Elevada eficacia tanto en desinfección de ambientes como de superficies.

➤ DIAGNÓSTICO INICIAL:

Análisis de la situación inicial para determinar el estado higiénico de las instalaciones.



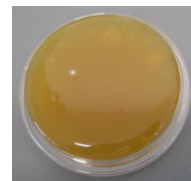
➤ DESINFECCIÓN:

Aplicación con **Nebulizador X3** de **Glocuat PC** para controlar la proliferación de microorganismos tanto en ambiente y como en superficies.



➤ VERIFICACIÓN:

Control del nivel de inóculo luego de la desinfección para comprobar su correcta aplicación.



Líneas:

- Limpieza previa de la línea (Eliminar tierra, restos de fruta y suciedad general. Lavado con detergente / desengrasante + aclarado).
- Pulverización de **Glocuat PC** con **Nebulizador X3** en ausencia de personas y de fruta.
- Plazo de seguridad: 12 horas. Ventilar.

Cámaras de frigoconservación:

- Limpieza de paredes, techo y suelo (Lavado con detergente + aclarado).
- Pulverización de **Glocuat PC** con **Nebulizador X3** en ausencia de personas y de fruta.
- Plazo de seguridad: 12 horas. Ventilar.



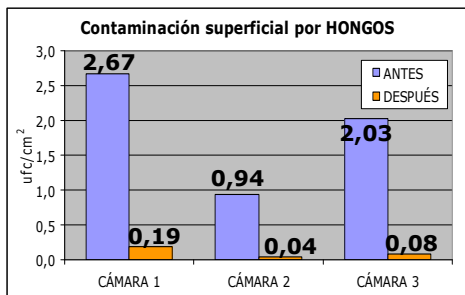
Ensayos realizados en cámaras de la industria citrícola han demostrado la elevada eficacia de nuestro Sistema para la Desinfección Ambiental de Cámaras.

CH	CÁMARA	ufc/m ³ ANTES	ufc/m ³ DESPUÉS	EFICACIA
1	C. 1	46,7	3,3	96,0 %
	C. 2	160,0	0	100 %
2	C. 1	562,5	4,2	98,9 %
3	C. 1	2.720,8	4,2	99,6 %

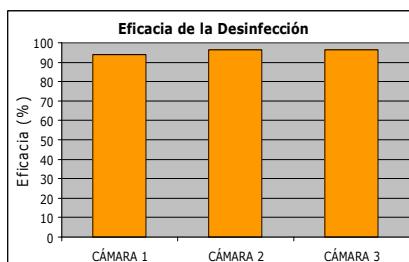
Contaminación ambiental (**ufc/m³** = unidades formadoras de colonias de hongos por m³ de aire analizado) en cámaras de diferentes CHs (volumen promedios de las cámaras = 980m³) ANTES y DESPUÉS de desinfectarlas con el **Glocuat PC** aplicado con el Sistema **Nebulizador X3** de Citrosol.

Eficacia demostrada Desinfección de superficies

Ensayos realizados en cámaras de almacenamiento de cítricos demuestran la eficacia de nuestro sistema en la desinfección de superficies.



Contaminación superficial (*ufc/cm²* = unidades formadoras de colonias de hongos por *cm²*) en diferentes cámaras de almacenamiento de cítricos ANTES y DESPUÉS de su desinfección con el **Nebulizador X3** aplicando **Glocuat PC**.



Eficacia del Sistema de Desinfección **Glocuat PC + Nebulizador X3** en la desinfección de superficies aplicado a tres cámaras de conservación de cítricos.

Alternativas para la desinfección de CHs

	SISTEMAS DE DESINFECCIÓN DE CHs		
	Botes fumígenos	Sistemas centralizados	Sistema Citrosol Glocuat PC + Nebulizador X3
Costo	+++	+++	+
Versatilidad	+++	+	+++
Eficacia Ambientes	++	++	+++
Eficacia Superficies	+	+	+++

Ref.: + = Bajo; ++ = Medio; +++ = Alto.

Nunca había sido tan fácil y económico desinfectar eficazmente

- El nebulizado se comporta como un gas, y permite alcanzar cualquier zona, elemento o superficie de la CH.
- Permite el establecimiento de programas secuenciales de desinfección de la CH.
- Con una inversión muy baja se dispone de un equipo con el que se puede desinfectar toda la CH.
- Aplicando el Gloquat PC las eficacias de la desinfección son muy elevadas, casi del 100% en ambientes y superiores al 90% en superficies incluso rugosas.
- Siguiendo las instrucciones de uso del producto, los residuos en fruta (por contaminación cruzada) nunca superarán el LMR establecido por la UE para DDAC o BAC (0,5 ppm).
- Los costos operativos son muy inferiores a los de los botes fumígenos (de eficacia también muy inferior).

13

COMENTARIOS, PREGUNTAS ¿?,

MUCHAS GRACIAS POR SU ATENCIÓN!

PRODUCTOS CITROSOL S.A.
International Symposium on
Plum and Sweet Cherry 2012

V. *Economics, Trade and Marketing.*

V. *Economía, Comercio y Marketing.*

Madrid 20

LA TECNOLOGÍA HARPIN: UNA MANERA NOVEDOSA DE ENTENDER LOS MECANISMOS DE AUTODEFENSA DE LAS PLANTAS.**“PROAC”: MOLÉCULA ACTIVADORA DE LA INDUCCIÓN DE RESISTENCIA Y SU EFECTO EN LA CALIDAD Y POST-COSECHA DEL FRUTO.****PLANT HEALTH CARE Y AGRODISA S.L.****José Antonio Martínez Esteban**

Traducción y Compilación por M.A. Ángel Pablo Marín

Las respuestas Hipersensitivas (HR por sus siglas en inglés) (Health, 2000; Lam et. Al., 2001) son un mecanismo común mediante el cual las plantas se defienden por si mismas. Debido a una respuesta Hipersensitiva (HR), una planta restringirá la proliferación de patógenos causando necrosis localizada (Cuarentena), o muerte de tejidos, dentro de un área pequeña alrededor del sitio de infección. Además de la respuesta de defensa local, HR induce la Resistencia Sistémica Adquirida (SAR por sus siglas en inglés) (Ryals et al., 1996) previniendo de infecciones subsecuentes causadas por otros patógenos (Dong, 2001).

Harpin *Ea* fue el primer elicitador de respuestas Hipersensitivas descubierto (Wei et. Al., 1992). La Tecnología Harpin se basa en una nueva clase de proteínas naturales no tóxicas identificadas desde 1992 en la Universidad de Cornell en los E.E.U.U. La proteína harpin activa sistemas de crecimiento y reproducción así como de defensa de las plantas de manera natural ante diversas enfermedades. Harpin *Ea* fue aislada a partir de *Erwinia amylovora*, un agente causal del fuego bacteriano en peras, manzanas y otras plantas rosáceas. En ese momento, tal descubrimiento fue pronunciado por la prestigiosa revista Science como el mayor descubrimiento científico en el entendimiento de cómo las plantas responden ante ataques de patógenos. Subsecuentemente, proteínas de harpin o similares han sido aisladas y sintetizadas de muchos otros patógenos bacterianos de las plantas.

La Tecnología Harpin ha evolucionado desde mediados de la década pasada. **Plant Health Care, PLC ("PHC")**, proveedor líder de productos ecológicos para la agricultura y horticultura a nivel mundial, adquirió los derechos y patentes de esta singular tecnología. Actualmente existe la segunda generación de esta proteína llamada **Harpin $\alpha\beta$** . Cuando **Harpin $\alpha\beta$** se aplica a las plantas, incrementa la biomasa, capacidad fotosintética, absorción de nutrientes, desarrollo de raíz y concluye con resultados exitosos en calidad y rendimiento del cultivo. Después de aplicar **Harpin $\alpha\beta$** , su actividad comienza con el aumento de intercambio catiónico a través de la membrana celular, seguida por cambios sustanciales en la expresión genética. Estos genes están asociados generalmente con señales y rutas relacionadas con funciones de transportación de proteínas y azúcares, expansión celular, desarrollo de la planta, inducción floral y cuajado de fruto, así como defensa y resistencia ante el estrés. Esta inducción de respuestas de la proteína **Harpin $\alpha\beta$** inician a través de un proceso vinculación con HrBP1, una proteína de harpin receptora que existe en la gran mayoría de cultivos en el mundo.

Madrid 20

La proteína **Harpin $\alpha\beta$** es el ingrediente activo en el producto **ProAct**. **ProAct** tiene características que le diferencian de Harpin Ea de la siguiente manera:

- **ProAct** contiene la combinación de dominios activos de 4 diferentes proteínas de Harpin nativas.
- Cada dominio contiene sub-unidades Alfa y Beta.
- La proteína compleja **Harpin $\alpha\beta$** contiene 412 aminoácidos con peso molecular de 42 kd
- Mayor potencia y mayor capacidad de producción
- Mayor eficiencia en cultivos de agricultura protegida y campo abierto

ProAct (Harpin $\alpha\beta$) esta disponible para el agricultor en E.E.U.U., Europa (incluyendo España), Turquía, Sudáfrica, Australia, y diversos países de Asia.

APLICACIONES EN CEREZO

España junto a Italia, Francia y Alemania son los mayores productores de cerezo en la Comunidad Europea. En España, las comunidades de Extremadura, Aragón, Cataluña y la provincia de Alicante es donde se concentra la producción de esta fruta de hueso.

En este sentido, la cereza alicantina abre los mercados en abril con su variedad Burlat. Debido a la climatología adversa durante las etapas de floración y cuajado, la producción se ve afectada de manera negativa en diversas regiones de la Península.

Ante las adversidades metereológicas que se presentan en este cultivo de alto valor, el uso de la proteína **Harpin $\alpha\beta$** ha venido evolucionando positivamente obteniendo diversos resultados tales como:

- Calidad de floración y mejora de cuajado
- Aumento de producción
- Calidad de cosecha (Calibre, color, firmeza, grados brix)
- Reduce la susceptibilidad de rajaduras de la fruta
- Incrementa el tiempo conservación de almacenamiento post-cosecha

(Ver resultados de ensayo comercial en fichero adjunto)

Asimismo, resultados muy positivos con aplicaciones de proteína **Harpin $\alpha\beta$** se han experimentado en Kent (Reino Unido) para prevenir el rajado de la fruta o *cherry cracking* desde el 2007 en combinación con calcio.

CONCLUSIONES

La Tecnología Harpin es el primer elicitador de respuestas Hipersensitivas (HR por sus siglas en inglés) que abre un nuevo camino para entender los mecanismos de defensa natural de las plantas. Harpin Ea pertenece a la primera generación de la tecnología, **ProAct (Harpin αβ)** pertenece a la segunda generación y esta disponible para los empresarios agrícolas de diversas latitudes. Esta tecnología induce la resistencia y crecimiento de las plantas y específicamente en cerezo, muestra resultados interesantes para prevenir rajadura de fruto e incremento de producción y calidad. Finalmente, el Departamento de Investigación y Desarrollo de Plant Health Care se encuentra en un proceso de mejora continua para poner a disposición de los agricultores nuevas generaciones de la tecnología Harpin.

Para mayor información, consulte la página en internet www.planthealthcare.es o marque a Servicio al Cliente 956408471. info@planthealthcare.es

Plant Health Care, PLC ("PHC") es proveedor líder de productos ecológicos para la agricultura y horticultura. Establecido en 1995 en Pittsburgh (Pennsylvania) en los Estados Unidos de América, PHC cuenta actualmente con 90 empleados aproximadamente y cuenta con subsidiarias que operan en los Estados Unidos de América, México, el Reino Unido, España y Holanda. Las acciones ordinarias de la compañía son listadas en el *Alternative Investment Market ("AIM")* de la Bolsa de Valores de Londres desde Julio de 2004 así como en el *Official List of the Channel Islands Stock Exchange ("CISX")* en Febrero 2010 (símbolo: PHC).