

## Relationship of the shelf life of fruits with the content of water and mineral nutrients

## Relación de la vida útil de frutos con el contenido de agua y nutrientes minerales

F.J. Quirante Moya<sup>1\*</sup>, M. Carvajal<sup>1</sup>, M.C. Martínez Ballesta<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Grupo aquaporinas, Departamento de Nutrición Vegetal, CEBAS-CSIC, Campus Universitario de Espinardo, 30100 Murcia. Spain.

<sup>2</sup>Grupo de Hortofloricultura Mediterránea, Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Spain.

\*fquirantemoya@cebas.csic.es

### **Abstract**

The doctoral thesis aims to study the physiological and molecular mechanisms that influence the turgor and firmness of the fruits, as well as their shelf life, identifying at the agronomic level the existence or not of molecular markers, the nutrition of Calcium and Boron will be adapted to the tree nutrition to influence the firmness of the fruits and the quality of the final product. Therefore, different foliar treatments will be directly tested in the field, checking their effectiveness, which it will allow to improve fruit quality and increase their shelf life.

**Keywords:** *Prunus* sp.; aquaporins; post-harvest; calcium; boron.

### **Resumen**

La tesis doctoral pretende estudiar los mecanismos fisiológicos y moleculares que influyen en el turgor y la firmeza de los frutos, así como en su vida útil. Pudiendo identificar a nivel agronómico la existencia o no de marcadores moleculares, se adaptará la nutrición de Calcio y Boro en el árbol para incidir en la firmeza de los frutos que, en su caso, repercutirá en la calidad del producto final. Se ensayarán de forma directa en campo diversos tratamientos foliares comprobando su eficacia, lo cual nos permitirá mejorar la calidad de los frutos con el consiguiente incremento de su vida útil.

**Palabras clave:** *Prunus* sp.; acuaporinas; post-cosecha; calcio; boro.

## 1. INTRODUCCIÓN

*Prunus* es un género perteneciente a la familia de las *Rosaceae*. Entre las 19 especies que componen este género, podemos encontrar algunas de elevado valor agronómico, como: melocotonero (*Prunus persica*), nectarino (*Prunus persica* var. Nectarina), paraguayo (*Prunus persica* var. platycarpa), almendro (*Prunus dulcis*), ciruelo (*Prunus domestica* L.), albaricoquero (*Prunus armeniaca*), cerezo (*Prunus avium*). En España, en el año 2018, la extensión de su cultivo abarcó más de 770.000 ha y su producción ascendió hasta 1.340.005 t. En 2016, su cultivo aportó más de 1.300 millones de € (1). Son frutos climatéricos y como tal, se ha detectado que la expresión de factores de insensibilidad y de respuesta al etileno podría estar modulando la producción del mismo (2), afectando al tiempo que conservan sus propiedades fisiológicas y organolépticas tras la cosecha.

Las acuaporinas, implicadas en la formación del fruto, son estructuras proteicas pertenecientes a la familia MIP (Proteínas Intrínseca de Membrana), que permiten el paso del agua libremente a través de las membranas celulares a favor de gradientes de presión osmóticos o hidrostáticos (3). Tradicionalmente se han clasificado en función de su composición aminoacídica y de su localización celular, dando como resultado distintas sub-familias, siendo la más grande la sub-familia PIP. Además, existen evidencias de que el flujo de iones está relacionado con la conductividad hidráulica de las membranas y la actividad de las acuaporinas (4). También se ha observado que la planta es capaz de regular la funcionalidad y expresión de acuaporinas, en situaciones de diferentes tipos de estrés (5). La activación/desactivación de algunas acuaporinas se produce por cascadas de fosforilación/desfosforilación, regulada por el calcio citoplásmico, a través de su interacción con una proteína quinasa (6).

De esta manera, la concentración de calcio en la disolución nutritiva puede determinar el restablecimiento de la conductancia hidráulica de las raíces (7). Además, el calcio y el potencial hídrico del apoplasto son responsables de la fosforilación de algunas acuaporinas (8); y se ha sugerido un papel del calcio citosólico en la regulación del turgor (9). El boro juega un papel clave en la función de la pared celular de la planta y bajos niveles de boro reducen su capacidad para la absorción de agua y nutrientes, lo que a menudo provoca a la vez una deficiencia de calcio (10). El principal problema en la nutrición de boro y calcio es la falta de movilidad en suelos y la planta, lo que dificulta su traspaso de la hoja a los frutos. Existen estudios de los beneficios de la aplicación foliar de B en los cultivos (11).

El objetivo principal es establecer un protocolo de aplicación de nutrientes vía foliar (Ca y B) para evitar las pérdidas de agua por los frutos y el mantenimiento de las estructuras celulares. Para ello se abordarán los objetivos parciales: 1) caracterizar la absorción y transporte de agua a través de los árboles; 2) estudiar el efecto de los tratamientos nutricionales sobre el paso del agua a través de las hojas a los frutos; 3) estudiar la implicación y respuesta de las acuaporinas en las hojas y en los frutos para determinar su relación con la firmeza y la vida útil, y 4) incrementar la absorción de calcio y B y el transporte de agua a la parte aérea del árbol y al fruto relacionándolos con la actividad de las acuaporinas y el turgor de las células del fruto.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### 2.1 Cultivos y diseño experimental

Aplicación experimental en campo de los tratamientos previamente testados en condiciones controladas. El spray foliar se suministra en la fase de cuaje de fruto, un total de dos difusiones. Las especies objeto de estudios son: *Prunus persica*, *Prunus persica* var. *platycarpa*, *Prunus armeniaca* y *Prunus avium*. Sobre ellos se aplicaron un total de 7 tratamientos, manteniendo un octavo cultivo en condiciones de cultivo estándar. Los minerales aportados por los distintos tratamientos son: 1) Calcio (Ca); 2) Calcio+ Boro (Ca + B); 3) Calcio + Silicio (Ca + Si); 4) Calcio + Proteína (Ca + Prot); 5) Calcio + Boro + Proteína (Ca + B + Prot); 6) Calcio + Silicio + Proteína (Ca + Si + Prot) y 7) Proteína (Prot).

### 2.2 Determinaciones Analíticas

#### 2.2.1 Conductancia hidráulica ( $L_0$ ), Potencial osmótico y turgor de los frutos

$L_0$  se medirá con la bomba de Scholander. El potencial osmótico determinará mediante valoración con un osmómetro. El turgor de los frutos se analizará mediante la sonda de presión celular.

#### 2.2.2 Crecimiento

Se determinará por medio del desarrollo de los frutos (peso fresco y seco).

#### 2.2.3 Análisis de nutrientes en fruto

Los aniones se analizarán por cromatografía iónica y los cationes por ICP.

#### 2.2.4 Análisis de la eficiencia en el uso del agua y nutrientes

Se calculará mediante la relación entre la absorción de agua y la de los nutrientes con la fijación de carbono.

#### 2.2.5 Análisis de la integridad de membrana del fruto

Se usará la técnica histológica de tinción de Evans Blue (12) y el Índice de estabilidad de la membrana analizando la fuga de electrolitos a través de la membrana.

#### 2.2.6 Análisis metabólico

Se realizará un análisis de aminoácidos, azúcares, ácidos orgánicos, etc..., y se relacionarán con los efectos fisiológicos. Se determinará por análisis dirigido por espectrometría de masas acoplado a HPLC.

#### 2.2.7 Expresión de AQPs

Se realizará usando cebadores específicos de las subfamilias PIP1 y PIP2 de acuaporinas y RT-PCR cuantitativa a tiempo real.

#### 2.2.8 Calidad físico química y sensorial de los frutos

Se determinará el contenido en sólidos solubles (SSC), pH y determinación de acidez titulable (TA) expresada en porcentaje de ácido cítrico. El Color de los frutos se determinará empleando un colorímetro calculando el índice de color (13). Los análisis sensoriales se realizarán de acuerdo con las normas internacionales en una habitación estándar.

#### 2.2.9 Firmeza

La firmeza se determinará con un texturómetro midiendo la cantidad de fuerza (N) para pinchar 8 mm de profundidad (sonda de 4 mm de diámetro).

#### 2.2.10 Incidencia de decaimiento

La incidencia de decadencia se expresará como un porcentaje de fruta infectada relacionada con el número inicial de fruta (14).

#### 2.2.11 Análisis microbiológico

Las cargas microbianas se analizarán tal y como ha descrito anteriormente (15). Se realizarán recuentos de levadura y mohos, microorganismos mesofílicos y psicrotrofos, enterobacterias hasta un periodo de 2 semanas de almacenamiento.

#### 2.2.12 Análisis de enzimas de degradación de la pared celular

Se determinará el peso de la pared celular de los frutos y actividades enzimáticas pectinmetilesterasa y poligalacturonasa.

### **3. RESULTADOS**

Entre los resultados esperados destaca la determinación y caracterización de los mecanismos de transporte de agua y nutrientes hacia el fruto, así como la caracterización de acuaporinas implicadas en dichos procesos. Se caracterizarán además los procesos fisiológicos que determinan el crecimiento y madurez de los frutos y la relación de su vida útil con la degradación de la pared celular a través de la caracterización de algunas de las enzimas

implicadas. Se establecerá un protocolo de nutrición foliar que permita mejorar la calidad y aumentar la vida útil de los frutos, mejorando sus propiedades de membrana y de pared celular.

#### 4. CONCLUSIONES

Los ensayos preliminares han derivado en los tratamientos actuales donde se prevé clarificar la implicación de iones como Ca y B, en el transporte de agua y calidad del fruto.

#### 5. AGRADECIMIENTOS

Francisco José Quirante Moya ha sido financiado por CEBAS-CSIC en el marco de un contrato CDTI con referencia 090202190226- FÉNIX FRESH.

#### 6. REFERENCIAS

1. FAOSTAT. Value of Agricultural Production. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QV>
2. Zhou H, Zhao L, Yang Q, Amar MH, Ogutu C, Peng Q, et al. Identification of EIL and ERF genes related to fruit ripening in peach. *Int J Mol Sci*. 2020;21(8):1–15.
3. Maurel C, Boursiac Y, Luu DT, Santoni V, Shahzad Z, Verdoucq L. Aquaporins in plants. *Physiol Rev*. 2015;95(4):1321–58.
4. Carvajal M, Cooke DT, Clarkson DT. Responses of wheat plants to nutrient deprivation may involve the regulation of water-channel function. *Planta*. 1996;199(3):372–81.
5. Li G, Santoni V, Maurel C. Plant aquaporins: Roles in plant physiology. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj*. 2014;1840(5):1574–82.
6. Gerbeau P, Amodeo G, Henzler T, Santoni V, Ripoche P, Maurel C. The water permeability of Arabidopsis plasma membrane is regulated by divalent cations and pH. *Plant J*. 2002;30(1):71–81.
7. Shokat S, Großkinsky DK. Tackling salinity in sustainable agriculture-What developing countries may learn from approaches of the developed world. *Sustain*. 2019;11(17).
8. Maurel C, Verdoucq L, Luu D-T, Santoni V. Plant Aquaporins: Membrane Channels with Multiple Integrated Functions. *Annu Rev Plant Biol*. 2008;59(1):595–624.
9. Chaumont F, Tyerman S. Plant aquaporins: From transport to signaling. 2017;354.
10. Del Carmen Rodríguez-Hernández M, Moreno DA, Carvajal M, Del Carmen Martínez Ballesta M. Interactive effects of boron and NaCl stress on water and nutrient transport in two broccoli cultivars. *Funct Plant Biol*. 2013;40(7):739–48.
11. Krishna H, Das B, Attri BL, Kumar A, Ahmed N. Interaction between different pre- and postharvest treatments on shelf life extension of 'Oregon Spur' apple. *Fruits*. 2012;67(1):31–40.
12. Shi Y, Zhang Y, Han W, Feng R, Hu Y, Guo J, et al. Silicon enhances water stress tolerance by improving root hydraulic conductance in solanum lycopersicum L. *Front Plant Sci*. 2016;7(FEB2016):1–15.
13. Pathare PB, Opara UL, Al-Said FAJ. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food Bioprocess Technol*. 2013;6(1):36–60.
14. Álvarez-Hernández MH, Martínez-Hernández GB, Avalos-Belmontes F, Castillo-Campohermoso MA, Contreras-Esquível JC, Artés-Hernández F. Potassium Permanganate-Based Ethylene Scavengers for Fresh Horticultural Produce as an Active Packaging. *Food Eng Rev*. 2019;11(3):159–83.
15. Navarro-Rico J, Artés-Hernández F, Gómez PA, Núñez-Sánchez MÁ, Artés F, Martínez-Hernández GB. Neutral and acidic electrolysed water kept microbial quality and health promoting compounds of fresh-cut broccoli throughout shelf life. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2014;21:74–81.