

TRATAMIENTO PRECOSECHA PARA LA MEJORA EN LA FRIGO CONSERVACIÓN DE LA GRANADA "MOLLAR DE ELCHE"

María Emma García Pastor, Ana Codes Alcaraz, Alicia Dobón Suárez, Juan Miguel Valverde Veracruz, Daniel Valero, María José Giménez Torres, Pedro Javier Zapata Coll y Salvador Castillo

Dpto. Tecnología Agroalimentaria, Grupo PostRecolección Frutas y Hortalizas, CIAGRO. EPSO Universidad Miguel Hernández, Ctra. de Beniel km 3,2 sn

Salvador Castillo
scastillo@umh.es

.....

Abstract: *The postharvest storage of 'Mollar de Elche' pomegranate fruit during long periods, around 3 months, in optimum conditions (6-9°C), could increase chilling injury incidence accompanied with quality losses of pomegranate fruits. In this experiment, the effect of methyl jasmonate (MeJa) at 5 mM, such as elicitor, by foliar treatment was study. This treatment was applied in different plots, safeguarded by Protected Designation in Origin (PDO). The results showed that this preharvest treatment reduced a 40-60 % of chilling injury incidence in the internal and external husk compared to the untreated fruits during postharvest storage. On the other hand, treated fruits showed a greater physical-chemical property than control, leading into a higher fruit acceptability by consumers.*

Keywords: Methyl Jasmonate, elicitor, chilling injury, electrolyte leakage, quality.

Resumen: *En la conservación de la granada Mollar de Elche durante periodos largos de conservación (3 meses), en condiciones idóneas de almacenamiento (6-9°C), pueden presentar daños por frío con una pérdida de calidad de los frutos de granada. En este trabajo se estudia el efecto de los tratamientos vía foliar con un elicitor, como es el jasmonato de metilo (JaMe) a concentración de 5 mM, en granados de distintas parcelas distribuidas dentro de la DOP. Observando que este tratamiento prerecolección produce una reducción de los daños por frío durante la conservación entre un 40-60 %, tanto externamente como internamente, frente a los árboles no tratados y una mejora en las propiedades físico-químicas de los frutos, lo que esto ayudaría a una mejor aceptación por parte del consumidor.*

Palabras clave: Jasmonato de metilo, elicitor, daños por frío, fuga de electrolitos, calidad

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo del granado ha ido adquiriendo en los últimos una mayor importancia, debido a sus numerosos beneficios para la salud, como consecuencia de esto se están buscando las mejores condiciones y tratamientos de conservación postrecolección de estos frutos. Según Kader [1], tras la recolección de la granada se producen una serie de alteraciones en el fruto que determinan su pérdida de calidad en un período relativamente corto de tiempo durante

su conservación. Entre dichas alteraciones destacan: deshidratación, daños por frío o “chilling injury” (CI) y podredumbres. Por lo tanto, se estudian sistemas y condiciones para un mejor almacenamiento y así mantener su valor comercial. El método más extendido en la conservación de granadas es el empleo de temperaturas bajas o almacenamiento en frío [2], pero en estas condiciones la granada muestra efectos o síntomas negativos, principalmente la aparición de manchas marrones en la corteza externa e interna, cuando es almacenada a temperaturas bajas (< 5 °C) [3].

Para la mejora de la conservación de la granada, se ha visto recientemente que tratamientos con elicitores como el jasmonato de metilo (JaMe) que es una hormona vegetal endógena derivada del ácido jasmónico (AJ) la cual juega un papel importante en el desarrollo de la planta. Se ha observado que es un inductor de la resistencia sistémica adquirida y que también proporciona tolerancia a la planta contra diferentes tipos de estreses, así como interviene en la floración, germinación de plántulas y regulación del crecimiento vegetal y maduración de la fruta [4]. También se ha publicado el papel que tiene en la reducción de la aparición del chilling injury (CI) en una amplia gama de frutos [5] [6].

Dados los problemas de conservación en frío que existe en la granada, donde se observan en el fruto daños por frío, ha llevado a numerosos estudios de investigación, donde se ha evaluado el efecto de elicitores en campo para la mejora de la calidad de los frutos en post-recolección. Entre dichos estudios, se han realizado aplicaciones con JaMe en campo en diferentes momentos del desarrollo del fruto evaluando el efecto en cuanto a la producción y su calidad en el momento de la recolección y durante la conservación en cámara (cereza, ciruela, uva, granada) a 2 °C y 10 °C, así como el efecto en los daños por frío durante la conservación [3] [4]. En estos trabajos se concluyó que dichos tratamientos con JaMe reducen estos daños por frío e incrementan la calidad del fruto. El objetivo principal de este trabajo es: conocer los efectos de un tratamiento en campo con JaMe 5 mM en los diferentes agrosistemas y el tipo de manejo del cultivo de la DOP “Mollar de Elche” evaluando los distintos parámetros de calidad físico-químicos, así como sobre la aparición de daños por frío durante dicha conservación en cámaras industriales.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El material empleado fueron árboles de granadas (*Punica granatum* L. cv. Mollar de Elche) de cuatro parcelas de distintas zonas y condiciones climáticas dentro de la DOP ‘Granada Mollar de Elche’. En dichas parcelas, se seleccionaron 10 árboles, 5 árboles control y 5 tratados con jasmonato de metilo (5mM) por vía foliar 5 días antes de su recolección. Tras la recolección, todos los frutos de cada parcela (entre 80 y 200 frutos) fueron transportados para su almacenamiento en cámaras industriales. Durante el periodo de conservación se realizaron 3 muestreos donde se seleccionaron 20 frutos por parcela (10 controles y 10 tratados), para su análisis al laboratorio del Grupo de Post-Recolección de Frutas y Hortalizas de la EPSO.

El tratamiento aplicado fue de jasmonato de metilo (JaMe) (pureza del 95 %, Sigma Aldrich, Madrid) a la concentración 5 mM, emulsionado con mojante/Tween-20 (0,5 mL/L) para su posterior aplicación por vía foliar de 3 L/árbol a 5 árboles por cada parcela. Las condiciones de almacenamiento fueron la de dos cámaras industriales, Cámara 1 (8,1 °C y 94,7 % HR) y Cámara 2 (6,1 °C y 95,1 % HR) (Figura 1), consideradas idóneas para el almacenamiento de granadas durante periodos largos [7].

Los tratamientos se realizaron en el momento en el que los productores iban a realizar la 2ª y última recolección, de acuerdo a sus criterios comerciales. Estos tratamientos se realizaron 5 días antes de la recolección. El primer tratamiento se realizó el día 1 de octubre y el último el día 15 de octubre, pasados los 5 días del tratamiento se recolectaron y se almacenaron en las cámaras, parcela 1 y 2 en la cámara 1 y parcela 3 y 4 en la cámara 2, siendo los tiempos

de almacenamiento de 103, 96, 90 y 89 días.

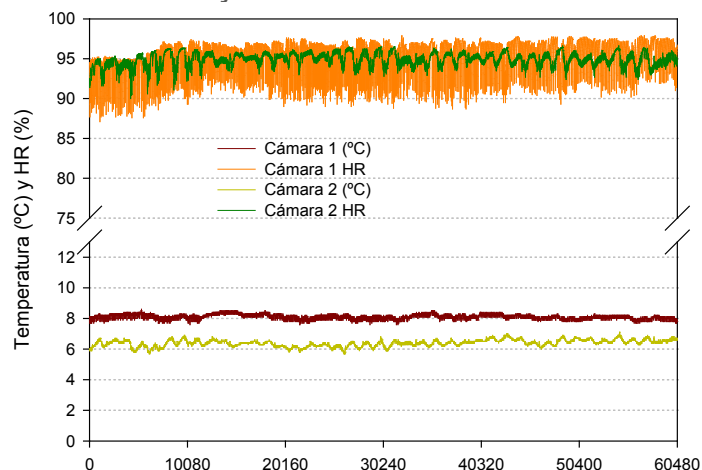


Figura 1. Evolución de temperaturas y HR (datalogger MSR715) dentro de cajas de conservación de la granada Mollar de Elche en las cámaras 1y 2 durante las últimas 6 semanas de conservación.

2.1. Parámetros físico-químicos

La firmeza de los frutos se determinó aplicando una deformación del 5 % mediante un Texturómetro TAXTplus (Texture Analyzer, Stable Microsystems, Godalming, UK) Los resultados se expresaron como la relación existente entre la de deformación y distancia ($N \cdot mm^{-1}$). Los resultados son la media \pm ES.

El color se realizó tanto en la superficie del fruto, como en su interior una vez cortado sobre la zona ecuatorial mediante un colorímetro CR-400 Minolta, Sistema Cie Lab (L^* , a^* y b^*). Se realizó sobre 10 frutos control y 10 tratados (6 datos por fruto).

Los sólidos solubles totales (SST) están relacionados con el estado de madurez y, por tanto, con el contenido en azúcares. Estos fueron medidos mediante un refractómetro digital HANNA HI96811 (0- 50 % Brix). La acidez titulable se determinó mediante un valorador automático Metrohm (785 DMP Titrino, Metrohm). Los resultados se expresaron en gramos del ácido málico/100 mL de muestra. La determinación del pH se realizó con un pH-metro Crison MM 41

2.2. Determinación de daños por frío. Fuga de electrolitos

Para la evaluación de daños por frío o 'Chilling Injury' (CI) de las granadas conservadas en las cámaras comerciales y mantenidas dos días a temperatura ambiente (20 °C), Se realizó una evaluación visual e individual de cada fruto de acuerdo con una escala hedónica de 6 puntos basada en el porcentaje de superficie de corteza afectada por los síntomas del CI (deshidratación, pardeamiento y punteado): siendo 0 (sin síntomas), 1 (1-20 %), 2 (21-40 %), 3 (41-60 %), 4 (61-80 %) y 5 (> 81 %). Estas escalas se realizaron según fotografías publicadas de daños CI en granada 'Mollar de Elche' [8], y con ellas se evaluó el grado de sintomatología de estos daños por frío tanto externamente como internamente Los resultados se expresaron como la media \pm ES de 10 frutos. La permeabilidad de la membrana se determinó como la fuga de electrolitos (IL) según el método utilizado por Chen [9], con ligeras modificaciones. La tasa de fuga de electrolitos se expresó como porcentaje del total: $(Lt/L_0) \times 100$, y los resultados fueron la media \pm ES.

2.3. Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como la media \pm ES de tres repeticiones. Los datos para las determinaciones físico-químicas se sometieron a análisis de varianza (ANOVA), realizado por el programa SPSS Statistics paquete de software v. 12.0 para Windows. Los parámetros daños por frío y fuga de electrolitos se sometieron a una comparación de medias utilizando la prue-

ba t de Student para examinar si las diferencias eran significativas con un valor de $P < 0,05$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Parámetros fisicoquímicos

En este estudio se ha visto que los tratamientos con JaMe (5mM) en Granada 'Mollar de Elche' se han mostrado diferencias significativas respecto al tratamiento, las parcelas evaluadas, y a los muestreos que se han llevado a cabo, tanto para la firmeza, color externo y sólidos solubles encontrándose también algunas interacciones entre dichas variables.

Tabla 1. Análisis test ANOVA para los parámetros físico-químicos evaluados con la representación del valor de Fisher (F) y el nivel de significancia para cada factor estudiado y sus interacciones

Parámetro	Parcela	Tratamiento	Muestreo	Parcela x Tratamiento	Parcela x Muestreo	Tratamiento x Muestreo x Parcela	Tratamiento x Muestreo
Firmeza ₁	30,97***	18,45***	106,92***	7,03***	2,16*	NS	NS
Color	49,69***	4,39*	21,33***	7,29***	2,66**	12,11***	NS
Color	48,77***	NS	17,93***	NS	6,87***	NS	NS
SST (°Brix)	64,19***	5,05*	11,75***	11,99***	4,68***	3,99**	1,93*
AT (g·100g)	29,92***	NS	54,65***	NS	15,28***	NS	NS
pH	33,36***	NS	20,22***	NS	5,52***	NS	NS

NS, no significativo ($P \geq 0,05$). Los símbolos *, ** y *** denotan diferencias significativas ($P < 0,05$; $P < 0,01$ y $P < 0,001$, respectivamente).

Una vez recolectadas las granadas, se pudo apreciar que los frutos de los árboles tratados presentaban una mayor firmeza (Tabla 2) con respecto a los frutos control de forma significativa ($P < 0,001$) (Tabla 1). Durante la conservación, la firmeza de la granada se redujo significativamente durante el almacenamiento, sin embargo, se pudo apreciar que las granadas que fueron previamente tratadas en campo presentaban una menor disminución de firmeza con respecto al control.

Tabla 2. Análisis test ANOVA para los parámetros físico-químicos evaluados con la representación del valor de Fisher (F) y el nivel de significancia para cada factor estudiado y sus interacciones

	P1-C	P1-T	P2-C	P2-T	P3-C	P3-T	P4-C	P4-T
Textura	25,98±1,56	27,93±0,94	25,67±0,75	29,29±1,39	30,31±0,66	33,96±0,79	25,40±0,81	26,08±0,81
hue* ext	73,32±1,80	54,81±2,77	54,45±3,57	52,15±3,05	50,31±3,57	49,51±2,21	61,24±1,56	48,89±1,86
hue* int	42,56±2,21	44,46±1,82	38,04±1,58	36,75±2,82	33,49±1,56	29,17±1,85	28,17±1,86	27,31±0,93
SST	15,47±0,15	16,04±0,13	15,63±0,11	15,99±0,09	15,29±0,14	15,48±0,18	16,12±0,23	16,80±0,14
AT	0,32±0,010	0,31±0,004	0,35±0,032	0,33±0,018	0,32±0,005	0,33±0,006	0,35±0,017	0,35±0,011
pH	3,87±0,023	3,90±0,021	3,63±0,096	3,67±0,053	3,84±0,015	3,80±0,019	3,88±0,025	3,90±0,009

En cuanto al color externo de los frutos se observaron diferencias significativas entre parcelas ($P < 0,001$) y entre tratamientos ($P < 0,05$) (Tabla 1). Los valores de color hue* presentaron cambios durante la conservación en las granadas control y las granadas tratadas, esto puede ser debido a los mismos daños de senescencia que se relacionan con un amarilleamiento de la corteza y mostrando diferencias significativas entre muestreos. Efectos similares fueron encontrados en un trabajo recientemente publicado [3]. Sin embargo, este tratamiento 5

días antes de la recolección no afectó al color interno, donde no se observaron diferencias significativas entre el color interno de las granadas control y las tratadas.

En cuanto a los sólidos solubles totales, si se pudo ver diferencias significativas entre parcelas Tabla 1, debido a las diferentes fechas de recolección y zonas geográficas, donde se ve un aumento de sólidos solubles con el retraso de la recolección (7, 13 y 14 días) desde valores de 15,47 hasta valores finales de 16,8 °Brix (Tabla 2). Dentro de una misma parcela y momento de recolección, se obtuvieron diferencias significativas entre las granadas tratadas y controles ($P < 0,05$), donde se observó un aumento de sólidos solubles en las granadas tratadas con JaMe. Efectos similares se obtuvieron en ensayos de granada tratadas con JaMe [10] [3], obteniéndose diferencias significativas ($P < 0,01$) en la interacción conjunta tratamiento* muestreo* parcela. Con respecto a la acidez total, para cada parcela tanto las granadas control como aquellas tratadas con JaMe no presentaron diferencias significativas, pero si se vieron entre parcelas y muestreos estudiados ($P < 0,001$), obteniéndose así resultados similares a Zapata [11].

3.2. Daños por frío, fuga de electrolitos

Aunque las condiciones de temperatura y HR de almacenamiento son las idóneas, Figura 1, se observó que bajo las condiciones estudiadas, se produjo un mayor porcentaje de daños por frío entre los frutos control frente a los tratados al final del almacenamiento, existiendo diferencias significativas entre los tratamientos. Estos daños son mucho menores a los producidos a temperaturas inferiores de 0-2 °C según trabajos en granada Mollar [3] [12] y en estudios previos [2]. En este último estudio, donde se realizó una comparativa entre la conservación a 0 °C y 5 °C más 7 días de shelf-life, se observó que los frutos conservados a 5 °C presentaron un mínimo de daños, resultados muy similares a los nuestros. También cabría resaltar que los tratamientos con JaMe 5 días antes de la recolección tienen un efecto beneficioso, ya que reducen estos daños por frío a la mitad durante el período de conservación de las granadas de las parcelas estudiadas.

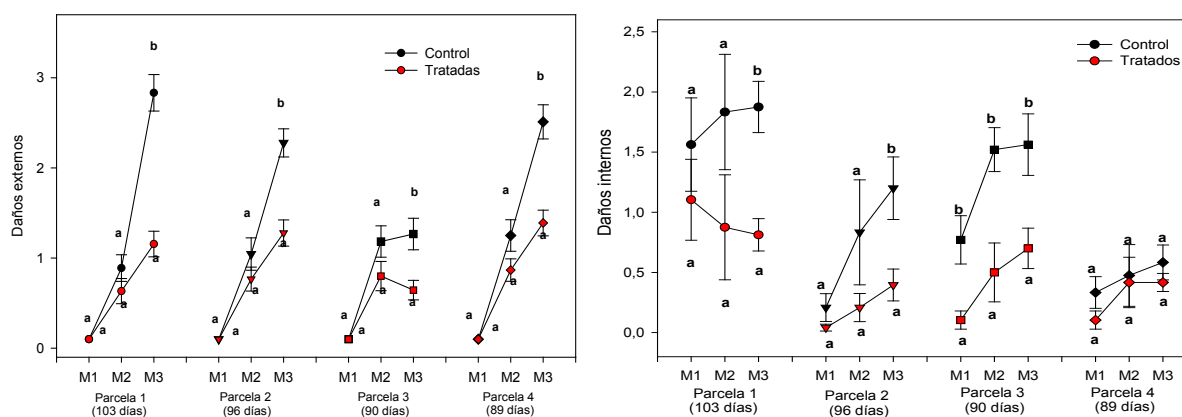


Figura 2. Evolución de daños externos e internos de la piel por frío "chilling injury", de granadas 'Mollar de Elche' en frutos control y tratadas con JaMe 5 mM. Los datos son la media \pm ES. Diferencias significativas entre tratamientos para un valor de $P < 0,05$ en cada parcela

La fuga de electrolitos proporciona una idea de la degradación de la membrana celular afectada por el efecto del frío. En la Figura 3 vemos que durante la conservación de las granadas se produjo una mayor fuga de electrolitos conforme avanzaba la conservación en cámara. Bajo las condiciones de almacenamiento estudiadas, dicha fuga no fue muy elevada debido a las buenas condiciones de almacenamiento, no superando en el peor de los casos el 16 %, mientras que en otros trabajos donde se conservaron a 2 °C la fuga de electrolitos fue muy superior durante el periodo de conservación superando el 50 % [8] [7] [12]. Se observó cómo los frutos tratados con JaMe 5 mM presentaron una menor fuga de electrolitos, manteniéndose constante dicha fuga durante el periodo de conservación frente a los controles,

los cuales mostraron un aumento significativo de la fuga de electrolitos al final del periodo de almacenamiento.

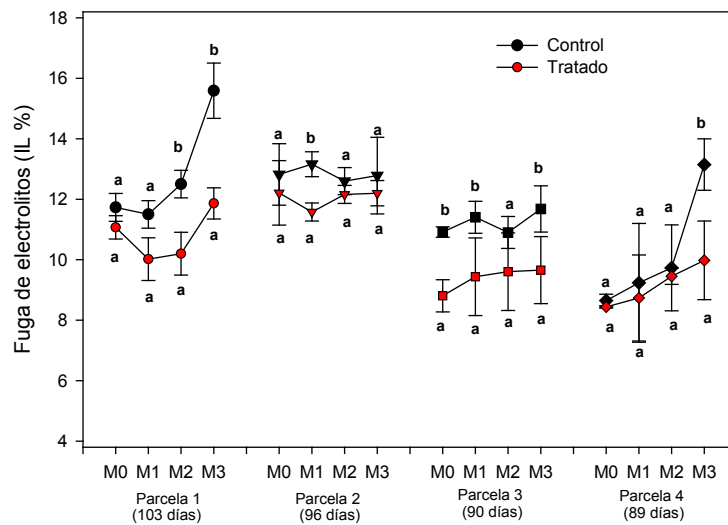


Figura 3. Evolución de los electrolitos en la piel de las granadas control y tratadas con JaMe 5 mM durante la conservación. Los datos son la media \pm ES. Diferencias significativas de $P < 0,05$ en cada parcela.

4. CONCLUSIONES

Los tratamientos con jasmonato de metilo (JaMe) 5 mM en una sola aplicación, 5 días antes de la recolección, mejoró significativamente la calidad postcosecha y la capacidad de almacenamiento de la granada 'Mollar de Elche'. En concreto el tratamiento mejoró la firmeza de los frutos, y su color externo al final de la conservación. Produciéndose un ligero incremento de los sólidos solubles y mantenimiento de la acidez, lo cual conlleva un incremento del índice de madurez de forma general.

Los tratamientos con JaMe 5 mM ayudaron a que la fuga de electrolitos o 'ion leakage' (IL) provocada por los daños por frío no incrementase durante el período de conservación industrial. Esto muestra que los daños por frío o "chilling injury" (CI) producidos durante la conservación, presentaron una incidencia significativamente inferior a las no tratadas, manteniendo el buen aspecto de las mismas al final del período del almacenamiento.

AGRADECIMIENTOS

A la Generalitat Valenciana (2020/VALORIZA/VSC/020) y a las empresas colaboradoras FRANCISCO OLIVA SL, Hermanos Fuentes C.B., HEBEGU SL y Antonio García Bernabéu

REFERENCIAS

- [1] Kader, A.A. (2006). Postharvest biology and technology of pomegranates. In Pomegranates. Ancient roots to modern medicine (pp 211-218). Seeram, N.P., Schulman, R.N., & Heber, D., Eds.: Boca Raton: CRC Press-Taylor & Francis.
- [2] Artés, F., Villaescusa, R., Tudela, J.A. (2000). Modified atmosphere packaging of pomegranate. J. Food Sci. 65, 1112-1116
- [3] García-Pastor, M.E.; Serrano, M. Guillén, F.; Giménez, M.J.; Martínez-Romero, D.; Valero, D. Zapata, P.J.; (2020a). Preharvest application of methyl jasmonate increases crop yield, fruit quality and bioactive compounds in pomegranate 'Mollar de Elche' at harvest and during postharvest storage. Journal Science Food Agriculture. 100: 145-153.
- [4] Serrano M, Martínez-Esplá A, Zapata P, Castillo S, Martínez-Romero D, Guillén F et al., (2018). Effects of methyl jasmonate treatment on fruit quality properties, in Emerging Postharvest Treatment of

Fruits and Vegetables, ed. by Barman K, Sharma S and Siddiqui MW. Apple Academic Press, Oakville, pp. 85–106 (Chapter 4).

- [5] Aghdam, M.S., Bodbodak, S. (2013). Physiological and biochemical mechanisms regulating chilling tolerance in fruits and vegetables under postharvest salicylates and jasmonates treatments. *Scientia Horticulturae*. 156, 73–85.
- [6] Glowacz, M., Ree, D. (2016). Using jasmonates and salicylates to reduce losses within the fruit supply chain. *European Food Research and Technology*. 242, 143–156. Gil, M.I.; Sánchez, R.; Marín, G. Artés, F. (1996). Quality changes in pomegranates during ripening and cold storage. *Zeitschrift für LebensmittelUntersuchung und Forschung*. 202: 481–485.
- [7] García-Pastor, M.E.; Serrano, M. Guillén, F.; Zapata, P.J.; Valero, D. (2020b). Preharvest or a combination of preharvest and postharvest treatments with methyl jasmonate reduced chilling injury, by maintaining higher unsaturated fatty acids, and increased aril colour and phenolics content in pomegranate. *Postharvest Biology and Technology*. 167, 111226.
- [8] Chen, J.Y., He, L.H.; Jiang, Y.M.; Wang, Y.; Joyce, D.C.; Ji, Z.L.; Lu, W.J. (2008). Role of phenylalanine ammonia-lyase in heat pretreatment-induced chilling tolerance in banana fruit. *Physiologia Plantarum* 132: 318–328.
- [9] Guillén, F.; Serrano, M.; Castillo, S.; García-Pastor, M.E.; Martínez-Romero, D.; Valero, D.; Zapata, P.J. (2019). The application of methyl jasmonate as preharvest treatment enhances yield, productivity and quality at harvest in pomegranate. *Acta Horticulturae*. 1254: 157 – 161.
- [10] Dobón-Suárez, A.; García-Pastor, M.E.; Codes-Alcaraz, A.M.; Castillo, S. (2020). Componentes de calidad sensorial, caracterización físico-química y funcional de la granada Mollar de Elche (*Punica granatum* L.). *Actas I CUISA 2020*. 493-504.
- [11] Zapata, P. J.; Guillén, F.; Giménez-Torres, M. J.; Valero, D.; Serrano, M.; García-Pastor, M. E.; Castillo, S. (2018). Efecto en la calidad de las granadas recolectadas en dos periodos y conservadas durante 3 meses a 2 condiciones de temperatura. IX Congreso Ibérico / VII Congreso Iberoamericano de las Ciencias y Técnicas del Frío CYTEF 2018, 1219
- [12] Sayyari, M., Castillo, S., Valero, D., Díaz Mula, H.M., Serrano, M. (2011). Acetyl salicylic acid alleviates chilling injury and maintains nutritive and bioactive compounds and antioxidant activity during postharvest storage of pomegranates. *Postharvest Biology and Technology*, 60 (2), 136-142