



Efecto del tratamiento combinado (1-metilciclopropeno/ CaCl_2) en parámetros de calidad poscosecha de frutilla (*Fragaria x ananassa*, Duch)

Francese P.⁽¹⁾, Langer S.⁽¹⁾, Marina M.⁽¹⁾, Civello P.⁽²⁾, Martínez G.⁽¹⁾, Villarreal N.⁽¹⁾

(1) Instituto de Investigaciones Biotecnológicas – Instituto Tecnológico de Chascomús (CONICET-UNSAM).

(2) Instituto de Fisiología Vegetal (CONICET-UNLP).

Dirección de e-mail: silvilan@intech.gov.ar

Resumen

El estudio y desarrollo de tratamientos que permitan prolongar el tiempo de vida poscosecha de frutos de textura delicada como frutilla (*Fragaria x ananassa*, Duch), resulta de interés tanto para el consumo en nuestro país, como para incrementar las exportaciones de frutos de calidad a mercados distantes. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del tratamiento con 1-metilciclopropeno (1-MCP, un inhibidor de la percepción del etileno) combinado con la aplicación de CaCl_2 sobre diferentes parámetros de calidad del fruto tales como contenido de antocianinas, azúcares totales, compuestos fenólicos y pH. Se utilizaron aproximadamente 500 frutos del cultivar Aroma cosechados en estadio de madurez comercial y se los sometió a los tratamientos: Control (C): 18 h aire a 20 °C + 30 min en agua a 25 °C. Tratamiento 1 (T1): 18 h aire a 20 °C + 30 min en CaCl_2 1% p/v a 25 °C. Tratamiento 2 (T2): 18 h 1-MCP 1 ppm a 20 °C + 30 min en agua a 25 °C. Tratamiento 3 (T3 o tratamiento combinado): 18 h 1-MCP 1 ppm a 20 °C + 30 min en CaCl_2 1% p/v a 25 °C. Se tomaron muestras inmediatamente después de cada tratamiento y luego de 10 días de almacenamiento a 4 °C + 2 días a 20 °C. No se detectaron diferencias significativas en el contenido de compuestos fenólicos, ni en el pH de frutos tratados respecto a los controles. Sin embargo, se observó que el contenido de antocianinas (cuya cuantificación se utiliza habitualmente como un parámetro para evaluar el progreso de la maduración durante la poscosecha de frutilla) fue significativamente menor en frutos sometidos a los tratamientos individuales y combinado respecto a los controles (tanto a tiempo inicial como tiempo final) y que dicho efecto fue más marcado en frutos T3. Asimismo, los frutos sometidos al tratamiento combinado presentaron un contenido menor de azúcares totales que los controles, posiblemente debido a una menor degradación de los polisacáridos que constituyen la pared celular. Estos resultados, sugieren que el tratamiento combinado podría ser una buena estrategia para retrasar la maduración poscosecha de frutilla, y se encuentran en concordancia con resultados previos obtenidos por nuestro grupo de investigación, en los que se observó que los frutos T3 presentaron una mayor firmeza y paredes celulares con un contenido mayor de pectinas y hemicelulosas que los frutos no tratados.

Palabras clave: frutilla, poscosecha, 1-MCP, CaCl_2 , calidad



Introducción

Las frutillas son frutos carnosos agrupados dentro de los denominados frutos blandos, junto con los arándanos, moras, frambuesas y grosellas (Green, 1971). Debido a sus excelentes propiedades organolépticas (aroma, sabor, textura y color), su valor nutricional y elevado contenido de compuestos antioxidantes, la frutilla es demandada tanto a nivel nacional como mundial. Argentina se encuentra entre los países de producción intermedia de frutilla en Sudamérica, cosechando alrededor de 13.200 toneladas anualmente. A nivel local, las zonas principales de producción se encuentran en Tucumán, Santa Fe y Buenos Aires (Kirschbaum y Hancock, 2000; FAOSTAT, 2013).

Los estadios de maduración de frutilla suelen clasificarse según el tamaño y color superficial del fruto (Kader, 2002). Los cambios en el color ocurren debido a la degradación de clorofilas y un aumento en la síntesis de antocianinas que son pigmentos flavonoides que confieren el color rojo al fruto. Una vez desarrollados los aquenios, se induce la asimilación de nutrientes desde la planta, así las frutillas, actúan como un sumidero de productos fotosintéticos generados en las hojas (Souleyre y col., 2004). Sin embargo, luego de la cosecha, las frutillas no acumulan cantidades apreciables de azúcares y la degradación del almidón aporta solo el 3% de los azúcares totales, razón por la cual deben ser retiradas de la planta en estadios avanzados de maduración (75-90% rojo) (Cordenunsi y col., 2003; Souleyre y col., 2004). Una vez cosechados, los frutos sufren un ablandamiento extensivo que favorece el ataque por patógenos, daño y deterioro durante el transporte resultando en pérdidas grandes económicas (Amil-Ruiz y col., 2011). Por estos motivos es de interés de desarrollo de tratamientos poscosecha que permitan prolongar el periodo de estantería de frutilla, conservando las excelentes propiedades organolépticas que caracterizan a estos frutos.

Respecto a la regulación hormonal de la maduración de frutilla, si bien es considerada un fruto no climatérico, trabajos recientes reportaron un rol del etileno en la maduración de estos frutos, regulando la expresión y actividad de enzimas y genes vinculados con el desarrollo del color del fruto y con el metabolismo de la pared celular (Villarreal y col., 2010; Villarreal y col., 2016).

En un trabajo previo llevado por nuestro grupo de investigación, se trataron frutillas en estadio de madurez comercial con un inhibidor de la percepción del etileno (1-metilciclopropeno, 1-MCP), con una solución de CaCl_2 1 % p/v, y con una combinación de ambos tratamientos (1-MCP/ CaCl_2) y se las almacenó durante 10 días a 20 °C y 2 días a 4 °C. Se observó que los frutos tratados eran más firmes que los controles, presentaban paredes celulares con un mayor contenido de hemicelulosas y pectinas unidas por interacciones iónicas y débiles, y eran más resistentes al ataque por el hongo patógeno principal de frutilla, *Botrytis cinerea*, tanto *in vivo* como en placa, respecto a controles. También se encontró una menor actividad fenilalanina amonioliasa (PAL, enzima principal de la vía de la síntesis de fenilpropanoides y flavonoides) en frutos tratados respecto a los controles. Si bien los resultados encontrados fueron significativos tanto para los frutos sometidos a los tratamientos individuales como al combinado, el efecto fue más pronunciado en el caso de los frutos tratados con 1-MCP/ CaCl_2 .



El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del tratamiento con 1-MCP combinado con la aplicación de CaCl_2 sobre diferentes parámetros de calidad del fruto tales como contenido de antocianinas, azúcares totales, compuestos fenólicos y pH.

Materiales y Métodos

Materia Prima

Se utilizaron aproximadamente 500 frutos de frutilla (*Fragaria x ananassa*, Duch.) del cultivar Aroma cosechados en estadio de madurez comercial (75-90% de coloración superficial roja) en la zona del Gran La Plata, Pcia. Bs. As. Los frutos se transportaron inmediatamente al laboratorio de forma refrigerada.

Tratamientos

Los frutos se seleccionaron de acuerdo a la forma y tamaño, y para cada condición evaluada se utilizaron 120 frutos. Los tratamientos realizados fueron: Control (C): 18 h aire, 20 °C + 30 min en agua, 25 °C; Tratamiento 1 (T1): 18 h aire, 20 °C + 30 min en CaCl_2 1% p/v, 25 °C; Tratamiento 2 (T2): 18 h 1-MCP 1 ppm, 20 °C + 30 min en agua, 25 °C; y Tratamiento 3 (T3): 18 h 1-MCP 1 ppm, 20 °C + 30 min en CaCl_2 1% p/v, 25 °C. Se tomaron muestras tanto inmediatamente después de los tratamientos (tiempo inicial, T_i) como luego de un almacenamiento de 10 días a 4 °C + 2 días a 20 °C (tiempo final, T_f). Para cada tiempo, se pulverizaron por triplicado 15 g de fruto con pilón y mortero en presencia de N_2 (l) y el pulverizado se utilizó para realizar las medidas que se describen a continuación.

Medida de pH

Se pesaron 2,5 g de tejido pulverizado para cada condición y tiempo evaluados, se agregaron 25 ml de agua destilada, se agitó y se centrifugó durante 5 min a 16.000 x g a 4 °C. Se tomó el sobrenadante y se midió pH de las muestras utilizando un pHmetro (OAKTON pH-700).

Contenido de antocianinas

Se tomaron 0,3 g del polvo resultante y se agregaron 3 ml de metanol conteniendo 1% v/v de HCl. Se incubó a 0 °C por 10 min y se centrifugó a 3000 x g por 15 min a 4 °C. Se realizó una dilución 1:4 del sobrenadante y se midió absorbancia a 515 nm. La cantidad de antocianinas se expresó como μmoles de pelargonidina-3-glucósido por kg de fruto.

Contenido de compuestos fenólicos

Se tomó 1 g del pulverizado y se homogenizó con 6 ml de etanol absoluto. Se centrifugó a 9000 x g por 15 min a 4 °C y se realizó una dilución 1:2 del sobrenadante. Se tomaron muestras de 0,1 ml y se mezclaron con como 1,16 ml de H_2O y 0,15 ml del reactivo



Folin-Ciocalteu 1 N. Luego de 3 min a temperatura ambiente, se agregó 1,5 ml de solución Na_2CO_3 2% p/v en NaOH 0,1 N. Se midió absorbancia a 760 nm. Los resultados se expresaron mg de ácido gálico por kg de fruto.

Contenido de azúcares totales

Se tomaron 0,4 g del pulverizado y se homogenizaron con 6 ml de etanol absoluto. El homogenato se centrifugó a 9000 x g por 10 min a 4 °C. El sobrenadante se diluyó en relación 1:25 con H_2O_d . Se tomaron muestras de 0,1 ml y se mezclaron con 1 ml de antrona 0,2% p/v en H_2SO_4 72% v/v. La mezcla se agitó y se trató a 100 °C durante 12 min. Luego las muestras se llevaron a temperatura ambiente y se midió absorbancia a 625 nm. Los resultados se expresaron como g de glucosa por kg de fruto.

Análisis Estadístico

Los datos fueron analizados mediante ANOVA, y las medias comparadas mediante el test Tukey; con un nivel de significancia $p \leq 0,05$. Se utilizó el Graph-PadPrism versión 5. (GraPpad, San Diego, CA, USA) para generar los gráficos de expresión relativa en función de las condiciones evaluadas.

Resultados y Discusión

Efecto de los tratamientos sobre el pH de los frutos

En un estudio sobre el efecto del etileno en la regulación bioquímica y fisiológica de frutillas (cv. Toyonoka) cosechadas en estadio blanco, se reportó que frutos tratados con 1-MCP y almacenados 2 días a 22 °C no presentaron diferencias en las medidas de pH respecto a controles (Villarreal y col., 2010). Tampoco se observaron diferencias de este parámetro en frutillas de *Fragaria chiloensis* 75-90 % rojas luego de ser sumergidos en una solución de CaCl_2 2% p/v y almacenadas durante 8 días a 2 °C y 48 h a 20 °C (Figuroa y col., 2012). En el presente trabajo, no se encontraron diferencias significativas de pH de las muestras de frutillas luego de los tratamientos (T1, T2 y T3) respecto a los controles, en ninguno de los dos tiempos analizados (Ti y Tf).

Tabla 1. pH de muestras de frutos C, T1, T2 y T3 a Tiempo inicial (Ti) y Tiempo final (Tf)

		Control	T1	T2	T3
pH	Ti	3,72 ± 0,03	3,72 ± 0,08	3,77 ± 0,07	3,77 ± 0,01
	Tf	3,74 ± 0,03	3,82 ± 0,01	3,80 ± 0,03	3,73 ± 0,01

Contenido de antocianinas

El contenido de antocianinas en frutilla se utiliza habitualmente como un parámetro para evaluar el progreso de la maduración de los frutos (Jimenez-García y col., 2013).



Se detectó un contenido de antocianinas significativamente menor en frutos sometidos a los tratamientos individuales (CaCl_2 y 1-MCP) y combinado (1-MCP/ CaCl_2) respecto a los controles, tanto a Ti como Tf, y dicho efecto fue más pronunciado en frutos T3 (Figura 1).

La acumulación de antocianinas se encuentra estrechamente vinculada al aumento de la actividad fenilalanina amonioliase (PAL) (Song y col., 2015). En este sentido, los resultados obtenidos en el presente trabajo se encuentran en concordancia con la menor actividad PAL encontrada previamente en frutos sometidos a los tratamientos T1, T2 y T3, a Tf. Se reportó una disminución significativa del contenido de antocianinas en frutos blancos tratados con 1-MCP, en los que también se halló una menor actividad PAL (Villarreal y col., 2010). Asimismo, frutos del cv. Everest, cosechados con un color 90% rojo, luego de ser tratados con diversas concentraciones de 1-MCP (500-1000 nL/L) y mantenidos a 20 °C, exhibieron un menor aumento del contenido de antocianinas que frutos controles (Jiang y col., 2001).

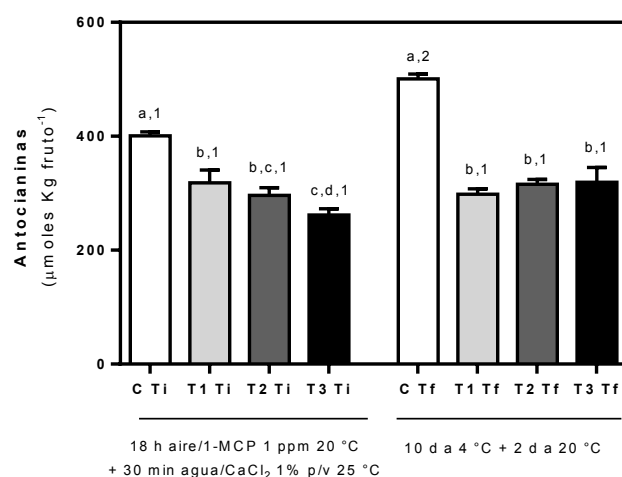


Figura 1. Contenido de antocianinas en muestras de frutos control (C), tratados con CaCl_2 (T1), tratamiento con 1-MCP (T2) y tratamiento combinado 1-MCP/ CaCl_2 (T3) a tiempo inicial (Ti) y tiempo final (Tf). Las barras indican desviaciones estándar del promedio. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de un mismo tiempo de incubación (Ti o Tf). Números diferentes indican diferencias significativas entre tiempos de incubación (Ti o Tf) para un mismo tratamiento ($p \leq 0,05$).

Contenido de compuestos fenólicos

Durante la maduración de frutilla, el contenido de compuestos fenólicos decrece continuamente, siendo la caída más marcada desde el estadio verde pequeño al blanco (Martínez y col., 2001). En el presente trabajo, no se hallaron diferencias significativas en el contenido de compuestos fenólicos entre frutos tratados y controles en ninguno de los dos tiempos analizados, Ti y Tf (Figura 2).

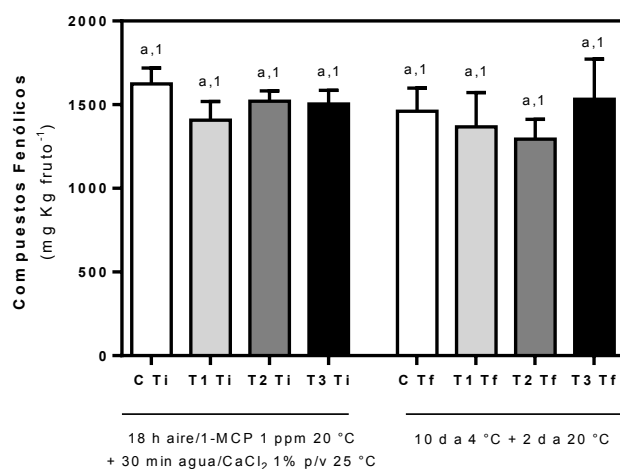


Figura 2. Contenido de compuestos fenólicos en muestras de frutos control (C), tratados con CaCl₂ (T1), tratamiento con 1-MCP (T2) y tratamiento combinado 1-MCP/CaCl₂ (T3) a tiempo inicial (Ti) y tiempo final (Tf). Las barras indican desviaciones estándar del promedio. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de un mismo tiempo de incubación (Ti o Tf). Números diferentes indican diferencias significativas entre tiempos de incubación (Ti o Tf) para un mismo tratamiento ($p \leq 0,05$).

Contenido de azúcares totales

Tanto los frutos sometidos a los tratamientos individuales (T1 y T2), como al combinado (T3) presentaron un menor contenido de azúcares totales respecto a los controles inmediatamente después de los tratamientos (tiempo inicial, Ti) (**Figura 3**). Luego del almacenamiento, sólo los frutos T3 presentaron un contenido de azúcares significativamente menor que el grupo control (**Figura 3**). Debido a que frutilla no acumula cantidades apreciables de azúcares luego de la cosecha (Souleyre y col., 2004), estos resultados sugieren una menor degradación de los polisacáridos que forman parte de la pared celular. En este sentido, Villarreal y col. (2010) reportaron un menor contenido de azúcares totales en frutillas blancas, tratadas con 1-MCP y almacenadas 2 días a 22 °C respecto a controles.

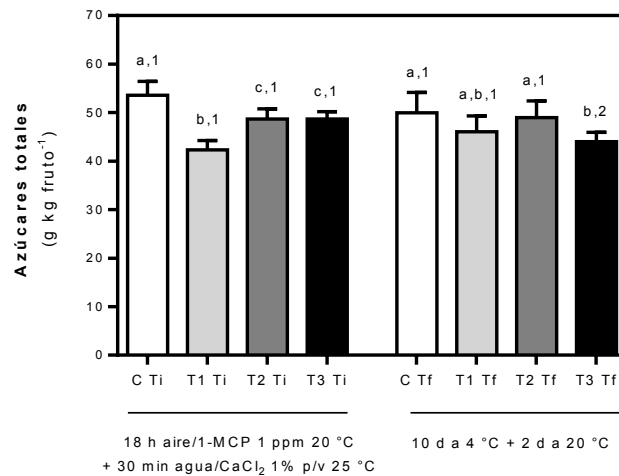


Figura 3. Contenido de azúcares totales en muestras de frutos control (C), tratados con CaCl₂ (T1), tratamiento con 1-MCP (T2) y tratamiento combinado 1-MCP/CaCl₂ (T3) a tiempo inicial (Ti) y tiempo final (Tf). Las barras indican desviaciones estándar del promedio. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de un mismo tiempo de incubación (Ti o Tf). Números diferentes indican diferencias significativas entre tiempos de incubación (Ti o Tf) para un mismo tratamiento ($p \leq 0,05$).

Conclusiones

No se detectaron diferencias significativas en el contenido de compuestos fenólicos, ni en el pH de frutos tratados T1, T2 y T3, respecto a los controles. Sin embargo, se observó que el contenido de antocianinas fue significativamente menor en frutos sometidos a los tratamientos individuales y combinado respecto a los controles y que dicho efecto fue más marcado en frutos T3. Asimismo, los frutos sometidos al tratamiento combinado presentaron un contenido menor de azúcares totales que los controles, posiblemente debido a una menor degradación de los polisacáridos que constituyen la pared celular.

Estos resultados, sugieren que el tratamiento T3 podría ser una buena estrategia para retrasar la maduración poscosecha de frutilla, y se encuentran en concordancia con resultados previos obtenidos por nuestro grupo de investigación, en los que se observó que los frutos T3 presentaron una mayor firmeza y paredes celulares con un contenido mayor de pectinas y hemicelulosas que los frutos no tratados.

Agradecimientos

El presente trabajo fue financiado a través de subsidios del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET; PIP 2013-2015 N° 0440) y Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT; Préstamo BID PICT 2012-1562) Los autores agradecen el apoyo técnico brindado por José Luis Burgos (Técnico CIC).



Referencias

AMIL-RUIZ F., BLANCO-PORTALES R., MUÑOZ-BLANCO J. (2011). The strawberry plant defense mechanism: a molecular Review, en *Plant and Cell Physiology*, 52: 1873-1903.

CORDENUNSI B., NASCIMENTO J., LAJOLO F. (2003). Physico-chemical changes related to quality of five strawberry fruit cultivars during cool-storage, en *Food Chemistry*, 83: 167-173.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAOSTAT). (2014). Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> [7 de Marzo de 2017].

FIGUEROA C., OPAZO M., VERA P., ARRIAGADA O., DÍAZ M., MOYA-LEÓN M. (2012). Effect of postharvest treatment of calcium and auxin on cell wall composition and expression of cell wall-modifying genes in the Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis*) fruit, en *Food Chemistry*, 132: 2014–2022.

GREEN A. (1971). Soft fruits. en: *The biochemistry of Fruits and their Products*. Capítulo 11. Editor: Hulme, A.C.; Academic Press.

JIANG Y., JOYCE D., TERRY L. (2001). 1-Methylcyclopropene treatment affects strawberry fruit decay, en *Postharvest Biology and Technology*, 23: 227-232.

JIMENEZ-GARCIA S., GUEVARA-GONZALES R., MIRANDA-LOPEZ R., FERREGRINO-PEREZ A., TORRES-PACHECO I., VAZQUEZ-CRUZ M. (2013). Functional properties and quality characteristics of bioactive compounds in berries: biochemistry, biotechnology, and genomics, en *Food Research International*, 54: 1195-1207.

KADER A. (2002). *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. University of California. Agriculture and Natural Resources. Third Edition.

KIRSCHBAUM D., HANCOCK J. (2000). The Strawberry Industry in South America. *Horticultural Science*, Vol 35, 5.

MARTÍNEZ G., CIVELLO P., CHAVES A., AÑÓN M. (2001). Characterization of peroxidase-mediated chlorophyll bleaching in strawberry fruit, en *Phytochemistry* 58: 379-387.

SONG J., DU L., LI L., KALT W., CAMPBELL P., FILLMORE S., ZHANG Y., ZHANG Z., LI X. (2015). Quantitative changes in proteins responsible for flavonoid and anthocyanin biosynthesis in strawberry fruit at different ripening stages: A targeted quantitative proteomic investigation employing multiple reaction monitoring, en *Journal of Proteomics*, 122: 1-10.

SOULEYRE E., IANNETTA P., ROSS H., HANCOCK R., SHEPHERD L., VIOLA R. (2004). Starch metabolism in developing strawberry (*Fragaria × ananassa*), en *Physiology Plantarum*, 121: 369-376.

VILLARREAL N., BUSTAMANTE C., CIVELLO M., MARTÍNEZ G. (2010). Effect of ethylene and 1-MCP treatments on strawberry fruit ripening, en *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90: 683-689.



VILLARREAL N., MARINA M., NARDI C., CIVELLO M., MARTÍNEZ G. (2016). Novel insights of ethylene role in strawberry cell wall metabolism, en *Plant Science*, 252: 1-11.