PRODUCCIÓN DE MANZANAS: CALCIO *vs* CALIDAD.

***Val, J., Aznar, Y., Cortés, E., Gracia, M.A., Mata, A.P., Medjoub, R. Monge, E. y Blanco, A.**
Estación Experimental de Aula Dei (CSIC)
Apdo 202, 50080 Zaragoza
*Autor al que debe dirigirse la correspondencia
e-mail: jval@eead.csic.es

RESUMEN

Las concentraciones altas de calcio en frutos y verduras aumentan su longevidad postcosecha, ralentizando la senescencia y previniendo ciertas alteraciones relacionadas con la deficiencia de este elemento. En el caso de la producción de manzanas, las alteraciones en el metabolismo del calcio inducen la aparición del bitter-pit, fisiopatología que provoca gravísimas pérdidas económicas a escala mundial.

En el marco de una agricultura sostenible, nuestro Grupo intenta mejorar la calidad de fruto a través del estudio de las alteraciones de las plantas relacionadas con el calcio. En este trabajo, se muestra un resumen de la actividad investigadora del Grupo en esta línea de estudio. Asimismo, se exponen alguno de los últimos resultados de mayor trascendencia agronómica.

Palabras clave: aportes de calcio, bitter pit, nutrición vegetal, calidad de fruto.

ABSTRACT

APPLE PRODUCTION: CALCIUM vs QUALITY

High calcium concentrations in fruits and vegetables increase their postharvest longevity, by slowing down senescence and preventing several calcium-related disorders. In apple production, alterations in calcium metabolism induce bitter-pit, which is a physiological pathology that causes dramatic economical losses worldwide.

Our Group, in the framework of a sustainable agriculture, attempts to improve fruit quality throughout the study of calcium-related metabolic alterations of plants.

This work shows a summary of the research activity of the Group in this topic. Furthermore, some of the latest results of agronomical importance are shown.

Keywords: bitter pit, calcium applications, fruit quality, plant nutrition.

Introducción

En Europa se produce gran cantidad de fruta. Cultivos como la cereza, kiwi, fresa, pera y manzana no solo tienen gran influencia en el balance económico de los estados de la Unión Europea, sino que contribuyen a mejorar la nutrición y el bienestar de sus pobladores. El consumo de fruta fresca mejora el color y variedad de la dieta del consumidor (WILLS et al. 1998), además de aportar nutrientes tan importantes como el calcio, elemento imprescindible para que se formen y mantengan, entre otras, las estructuras ósea y dental.

Debido a su gran adaptabilidad, el manzano, junto a otros frutales caducifolios muy productivos, ha sido cultivado desde tiempos muy remotos. Según la FAO (2000), en la Unión Europea se cultivan el 15% del total de manzanas del

mundo (9.571.000 tm) y, tras Francia e Italia, España es el tercer productor con 84.900 tm y 60.744 ha dedicadas a este cultivo.

Las exigencias del mercado por productos de alta calidad a precios competitivos han ido creciendo en los últimos años. Esto ha obligado al fruticultor a replantear sus objetivos, para permitir la producción de fruta de alta calidad a costo moderado, asumiendo incluso el descenso de producción en términos absolutos. De hecho, cuando se aplican técnicas culturales para obtener máxima producción o grandes tamaños, la calidad del fruto es, por lo general, baja.

En las especies frutales, la calidad del fruto se evalúa en términos de tamaño, color, forma y sabor, falta de daños provocados por agentes patógenos u otros estreses abióticos (ROEN et al, 1996). El calcio es el elemento clave en relación con la calidad del fruto. De hecho, MARSCHNER (1995) describe que bajas concentraciones de calcio en fruto aceleran los procesos de senescencia, y que cualquier aumento de esta concentración de calcio, por pequeña que sea, ayuda a prevenir o a disminuir drásticamente las pérdidas económicas que ocasionan las enfermedades asociadas con el almacenamiento, como la podredumbre causada por Gloesporium. Ejemplos de deterioro cualitativo del fruto causado por alteraciones relacionadas con el calcio son el bitter pit de las manzanas y la podredumbre apical del tomate (VAL y BLANCO, 2000 y SANZ et al., 2001). En este mismo sentido, FALLAHI et al. (1997) afirma que concentraciones altas de calcio en frutos y verduras aumentan su longevidad postcosecha, ralentizando la senescencia y suprimiendo la descomposición que producen determinados microorganismos patógenos.

El bitter-pit y otras fisiopatías de similar etiología constituyen el mayor problema en la producción, respecto a la calidad del fruto, que sufren los productores y exportadores de manzanas de España y otros países. Los síntomas del bitter pit aparecen, principalmente en postcosecha, como áreas pardas en la superficie del fruto, que deprecian el valor del producto, haciendo que sea imposible su comercialización para su consumo en fresco. La investigación realizada durante los últimos 50 años ha demostrado que la incidencia de esta alteración está inversamente relacionada con la concentración de calcio en fruto y es directamente proporcional a las concentraciones de magnesio, potasio, fósforo y nitrógeno (FALLAHI et al., 1997). La incidencia de esta enfermedad alcanza su cenit durante el almacenamiento, por lo que se desperdician las inversiones realizadas durante la etapa de cultivo, recolección, transporte y almacenamiento. Hasta el momento, se han realizado numerosos estudios científicos orientados a determinar las causas de su aparición, pero tras más de cien años de investigación aún siguen sin conocerse los mecanismos metabólicos implicados.

A mediados de los 90, nuestro Grupo inició, una línea de trabajo orientada al estudio y diagnóstico de las alteraciones metabólicas de las plantas relacionadas con el calcio. En nuestra opinión, el conocimiento de los procesos metabólicos implicados en el desarrollo de las fisiopatías dependientes de calcio, permitirá aportar soluciones que impidan o mitiguen al mínimo las pérdidas de producción debidas a deterioros cualitativos de los frutos. Esta investigación persigue la obtención de producciones de calidad, rentables y eficientes haciendo hincapié en la gestión agrícola integrada, la conservación del suelo, agua, energía y recursos biológicos.

Resumen de Resultados

En el cuadro 1, se exponen sucintamente alguno de los trabajos realizados recientemente por el Grupo de Investigación en el intento de profundizar en el conocimiento de las causas que desencadenan el bitter pit. Así, se han descrito detalladamente las evoluciones de nutrientes en hoja y fruto (VAL et al., 1998; VAL et al., 2000), en una plantación afectada históricamente por bitter-pit. Se ha demostrado la existencia de gradientes de concentración de aniones y cationes en el volumen del fruto y cómo esta distribución se modifica drásticamente en manzanas afectadas por la fisiopatía (AZNAR et al., 2001b). Asimismo, se han aportado pruebas de que las manchas de bitter-pit contienen, no sólo una gran concentración de Ca^{2+} (VAL et al., 1999), sino que acumulan gran cantidad de Mg^{2+}. De hecho, el magnesio total encontrado en las lesiones es 10 mayor que el del tejido circundante y que el de la manzana sana (AZNAR et al., 2001a). En nuestro laboratorio se ha conseguido la inducción de manchas similares a las de bitter pit infiltrando sales de magnesio en el fruto, además, tras el análisis de las manchas provocadas artificialmente se ha demostrado que la composición de estas zonas es muy similar a la de las que aparecen de forma natural (resultados no publicados). Este método de infiltración mencionado puede utilizarse para el diagnóstico precoz del bitter pit.

También se ha trabajado en el desarrollo de otros métodos de prognosis, incluyendo el uso del análisis florar para predecir las alteraciones del fruto. Hay que mencionar los estudios de diferenciación varietal, y composición de la flor según su posición en el corimbo (reina, no-reina); variación interanual de las flores, y la flor como primordio de hojas y frutos. En estos estudios se demostró que, en general, la flor reina contiene mayor concentración de nutrientes que el resto del corimbo; y lo que es más importante, se han obtenido datos que permiten insertar los contenidos nutricionales de la flor como el primer punto en la evolución del fruto. Esto hace pensar que el uso del análisis de flor para determinar el estatus nutricional de las manzanas y la posible incidencia de fisiopatologías nutricionales es una realidad cada vez más próxima (resultados no publicados).

En el cuadro 2, se resumen las aproximaciones experimentales que hemos utilizado para estudiar la forma de aumentar la concentración de calcio los tejidos vegetales y, en particular, en el fruto.

Los tratamientos realizados en campo sobre manzanos afectados históricamente por bitter pit, han demostrado la baja efectividad de los tratamientos foliares con calcio, bien en forma de cloruro o como nuevos compuestos de Ca^{2+} como el Calcimax© (MATA et al., 2000; MATA et al., 2001). Sin embargo, al aplicar al suelo hidrolizados de proteínas con alto contenido en calcio en la forma comercial Rootip-Ca©, se consiguen reducciones significativas del porcentaje de afección por bitter-pit (Figura 1).

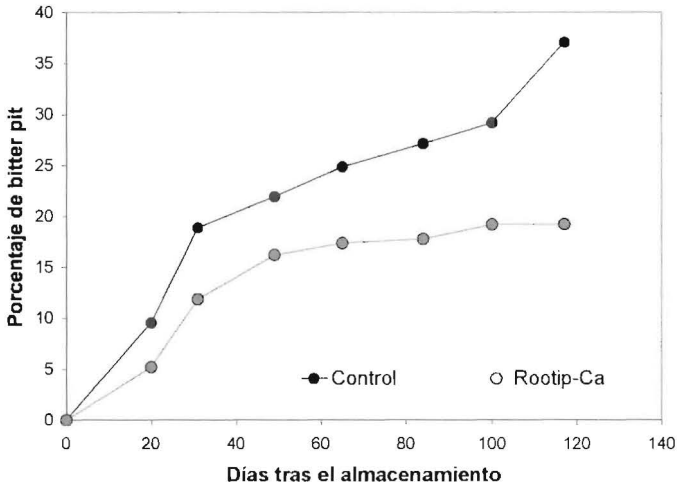


Figura 1. Efecto del tratamiento al suelo con Rootip-Ca en la calidad de manzanas Golden almacenadas a 4°C.

Figure 1. *Effects of soil treatment with Rootip-Ca on the quality of apples cv Golden stored at 4°C*

Por otra parte, la aplicación racional de nuevos reguladores de crecimiento como el Proheaxadione-Ca© (Medjdoub et al., 2001), ofrece una interesante expectativa para mejorar la calidad de las manzanas (Figura 2).

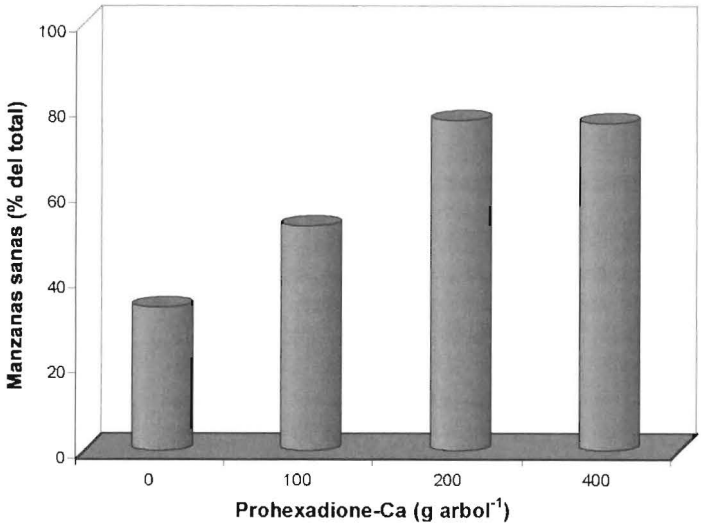


Figura 2. Incidencia de distintos tratamientos con Proheaxadione-Ca en el porcentaje de manzanas no afectadas por bitter pit tras 30 días de almacenamiento en cámara fría.

Figure 2. *Incidence of Prohexadione-Ca treatments on the percentage of apples unaffected by bitter pit after 30 days of cold storage*

El oscurecimiento de las manchas por bitter-pit y del resto de tejidos del fruto hacia el color pardo es el resultado de la actividad de las enzimas peroxidasa y polifenoloxidasa. Esta última es una Cu-oxidasa bifuncional con actividad catecolasa y cresolasa, que convierte los fenoles, en presencia de oxígeno a orto-quinonas que se polimerizan por reacciones no enzimáticas oxidándose para formar pigmentos melaninosos de color marrón oscuro (TREJO-GONZÁLEZ y SOTO-VALDÉZ, 1991). En 1992, RODRÍGUEZ y RUIZ, pusieron a punto una serie de técnicas rápidas para detectar magulladuras en peras y manzanas, que permiten la observación macroscópica del daño antes de que sea visible por el proceso natural. Recientemente se ha desarrollado en nuestro laboratorio un método de tinción de secciones de fruto que revela visualmente la actividad de esta enzima (Figura 3). En esta figura puede observarse cómo las zonas de bitter pit se colorean más fuertemente que el resto de tejidos indicando la mayor velocidad de oxidación de compuestos fenólicos en las áreas afectadas.

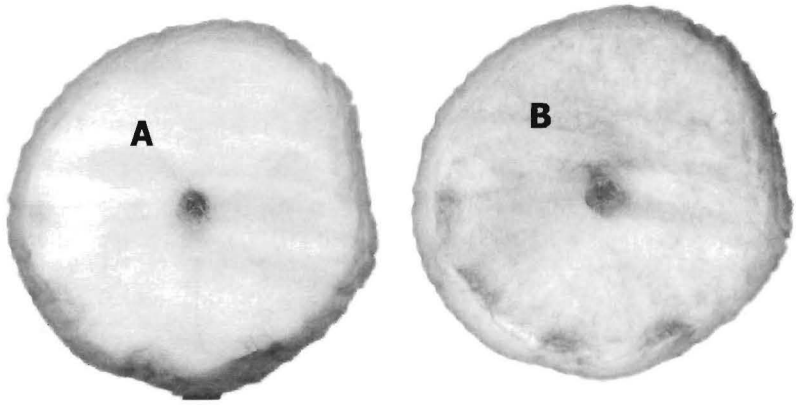


Figura 3. Tinción selectiva de Polifenoloxidasa (PPO) en superficies de fruto. (**A**) sección de fruto afectado por bitter pit, (**B**) el mismo corte teñido específicamente para PPO

Figure 3. *Selective staining of polyphenoloxydase (PPO) on apple surfaces. (A) fruit section affected by bitter pit, (B) same surface after PPO specific staining.*

Además de los resultados comentados en el texto, en los cuadros 1 y 2, se exponen esquemáticamente los correspondientes a otras determinaciones metabólicas y aproximaciones experimentales ya realizadas o que están actualmente en curso. La brevedad de esta aportación y el espíritu que ha impulsado su elaboración ha sido dar a conocer, siquiera sucintamente, parte de los trabajos de nuestro grupo que, además de dedicarse a la investigación, persigue la mejora del Desarrollo Agrario.

Cuadro 1. Resumen de los estudios llevados a cabo por el Grupo en relación con la calidad de la manzana.

Table 1. *Summary of the research carried out by the group with regard to apple quality*

Tipo de Estudio	Objetivo	Resultados
Nutricional		
Flor	Diagnóstico precoz	Origen de nutrientes en hojas y frutos
Hoja	Estatus nutricional	Utilidad de la relación foliar K/Ca
Fruto	Prognosis	Relación K/Ca menos útil
Distribución dentro del fruto		Existencia de gradientes 3D de aniones y cationes
Infiltraciones		
Sales de Mg^{2+}	Prognosis de b-p	Inducción de manchas b-p
Promotor de etileno		Inducción de manchas distintas b-p
Morfología del bitter pit		
Semillas	Fuente de auxinas	+ semillas ↓ b-p
Distribución de manchas	disposición espacial	+ zona calicina y acumulación en 1 zona longitudinal
Tinciones selectivas		
Calcio	Obtener información rápida y visual de las secciones del fruto	Acúmulo de Ca en zonas b-p
Catecoloxidasa		Mayor oxidación de fenoles en zonas b-p
Caracterización de tejidos		
Cationes	Búsqueda de diferencias	Acumulación de Ca y Mg en zona b-p
Aniones		Acumulación de fosfato y citrato
Histología	Caracterización del tejido b-p	Formaciones globulares intercelulares
	Estructura del pedúnculo	No hay diferencias en frutos afectados
Actividades enzimáticas	Búsqueda de diferencias	
Polifenoloxidasa		Mayor actividad en zonas b-p
Patrón de proteínas	Identificación de polipéptidos estructurales y funcionales	
Patrón de isoenzimas		Estudios iniciales
Catecoloxidasa Peroxidasa Superóxidodismutasa	Búsqueda de diferencias	

Cuadro 2. Resumen de estrategias experimentales utilizadas para aumentar el suministro de Ca^{2+} y mejorar la calidad del fruto

Estrategia experimental	Objetivo	Resultados
Aportes de Calcio		
Al suelo		
Rootip-Ca	Aumento de Ca^{2+} en el fruto	Disminuye el % de b-p
Aspersión foliar		
$CaCl_2$		Baja o nula efectividad
Calcimax		
Carga de cosecha	Competencia por nutrientes	Necesita más estudios
Reguladores de crecimiento	Relación entre órganos	
Prohexadione-Ca		Mejora la conservación
Fertilización		
Gradiente N / K	Relación con el bitter pit	En curso
Aspersión foliar de Mg^{2+}		
Polinización forzada	Mecanismos de transporte de Ca^{2+}	En curso
Aplicación de IAA		
Antitranspirantes		
Restricción de calcio en Tomate hidropónico	Deficiencia de calcio	Inhibición del crecimiento. Cambios en todos los procesos fisiológicos

Bibliografía

1. AZNAR, Y., CORTÉS, E., BLANCO, A. y VAL, J. (2001). Composición aniónica y catiónica de las manchas de bitter pit en manzanas de tipo golden. In Actas del IV Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas, Vol. (en prensa).
2. AZNAR, Y., CORTÉS, E., BLANCO, A. y VAL, J. (2001). Gradientes nutricionales en manzanas afectadas por bitter pit. In Actas del IV Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas, Vol. (en prensa).
3. FALLAHI, E., CONWAY, W.S., HICKEY, K.D. y SAMS, C.E. (1997) The Role Of Calcium and Nitrogen In Postharvest Quality and Disease Resistance Of Apples. Hortscience, 32, 831-835.
4. MARSCHNER, H. (1995) Mineral nutrition fo higher plants, 2° edn. Academic Press, San Diego.
5. MATA, A.P., AZNAR, Y., BLANCO, A. y VAL, J. (2000) Evaluación Preliminar del Calcimax en Manzano para la Prevención del Bitter Pit. Nutrición mineral en una agricultura mediterránea sostenible, vol. 1: 435-441.
6. MATA, A.P., CHARLEZ, J.M., VAL, J. y BLANCO, A. (2001) Evaluación del Calcimax como corrector del bitter pit en manzanos de tipo golden. Actas del IV Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas, (en prensa).

7. RODRIGUEZ, L. y RUIZ, M. (1992) Técnicas colorimétricas rápidas y sencillas para la detección de magulladuras en frutos de pera y manzana. Investigación Agraria: Prod. Prot. veg., 7, 81-89.
8. ROEN, D., HANSEN, S., MAGE, F. y REDALEN, G. (1996) Quality evaluation of apple cultivars. NJAS, 10, 281-288.
9. SANZ, M.A., BLANCO, A., MONGE, E. y VAL, J. (2001) Caracterización de la deficiencia de calcio en plantas de tomate utilizando parámetros fisiológicos. ITEA, 97V, 26-38.
10. TREJO-GONZÁLEZ, A. y SOTO-VALDÉZ, H. (1991) Partial characterization of polyphenoloxydase extracted from 'Anna' apple. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 116, 672-675.
11. VAL, J., AZNAR, Y., GIL, A., MONGE, E. y BLANCO, A. (1998) Evolución de nutrientes en una plantación de manzano afectada por "bitter-pit". Actas del VII Simposio Nacional-III Ibérico sobre Nutrición Mineral de las Plantas, 33-39.
12. VAL, J., AZNAR, Y., MONGE, E. y BLANCO, A. (1999) Un nuevo método de detección del bitter pit. Actas de Horticultura, 27, 188-192.
13. VAL, J. y BLANCO, A. (2000) Nutrición cálcica y bitter pit. ITEA, Extra 21, 223-239.
14. VAL, J., GIL, A., AZNAR, Y., MONGE, E. y BLANCO, A. (2000) Nutritional study of an apple orchard as endemically affected by bitter-pit. Acta Horticulturae, 502, 493-502.
15. WILLS, R., MCGLASSON, B., GRAHAM, D. y JOYCE, D. (1998) Postharvest - An Introduction to the Physiology & Handling of Fruit, Vegetables & Ornamentals CAB International, Wallingford (Reino Unido).