

Water stress to enhance vitamin C in extra early nectarines

N. Falagán^(1,2), F. Artés^(1,2), P.A. Gómez⁽²⁾, F. Artés-Hernández^(1,2), J.M. de la Rosa⁽³⁾, E. Aguayo^(1,2)

⁽¹⁾ Unidad Calidad Alimentaria y Salud. Instituto de Biotecnología Vegetal. Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT). Campus Muralla del Mar. 30202 Cartagena, España. natalia.falagan@upct.es

⁽²⁾ Grupo de Postrecolección y Refrigeración. Dpto. Ingeniería de Alimentos. ETSIA-UPCT. Paseo Alfonso XIII, 48. 30203. Cartagena, España. Tel.: +34 968 325750

⁽³⁾ Grupo de 'Suelo-Agua-Planta'. Dpto. de Producción Vegetal. ETSIA-UPCT

Resumen

Durante 3 años se estudió el efecto del riego deficitario controlado (RDC) sobre el contenido en vitamina C de la nectarina extra temprana "VioWhite 5" en cosecha, durante almacenamiento refrigerado (0°C; 90-95% humedad relativa (HR) y tras simulación de comercialización (15°C; 70-75% HR), centrándose en la relación con la enzima ascorbato peroxidasa (APX). Como estrategias de riego: i) Testigo, regado al 110% de la ETC (máxima evapotranspiración del cultivo); ii) RDC₁, regado al 110% ETC durante los periodos críticos y al 85% del Testigo durante el resto de temporada; iii) RDC₂, regado al 110% ETC durante los periodos críticos y al 80 y 60% Testigo durante la segunda etapa de crecimiento del fruto y en postcosecha, respectivamente. La respuesta del fruto sujeto a RDC mostró la existencia de estrés hídrico siendo dependiente de la intensidad y duración del RDC. Se observó que el comportamiento de la enzima APX y el contenido del ácido dehidroascórbico se podían utilizar como indicadores bioquímicos de estrés abiótico. La piel acumuló más vitamina C que la pulpa. Como conclusión, RDC es una práctica que permite el ahorro de agua (780 y 2.050 m³/ha año para RDC₁ y RDC₂, respectivamente) y mejora el contenido de vitamina C a través de la estimulación de APX.

Palabras clave: factores precosecha, vitamina C, ascorbato peroxidasa.

Abstract

During 3 consecutive years, the effect of regulated deficit irrigation (RDI) strategies on vitamin C at harvest, during cold storage (0°C; 90-95% relative humidity (RH) and after retail sale period (15°C; 70-75% RH) of extra early nectarine 'VioWhite 5' was studied, focusing on ascorbate peroxidase (APX) response. RDI strategies were programmed as: i) Control, irrigated at 110% of ETC (maximum crop evapotranspiration); ii) RDI₁, irrigated at 110% ETC during critical periods of growth and at 85% of Control during the rest of growing season. iii) RDI₂, irrigated at 110% ETC during critical periods of growth and at 80 and 60% Control during second fruit growth stage and late postharvest, respectively. The RDI application on extra early nectarines showed the existence of water stress on fruit response. This stress was dependent on RDI intensity. APX activity and dehydroascorbic acid levels revealed as good indicators of this abiotic stress. Peel metabolism was higher than pulp one and accumulated more vitamin C. Water savings were important: 780 and 2,050 m³/ha year for RDI₁ and RDI₂, respectively. As conclusion, RDI can be used as a water-reducing field practice demand while enhancing vitamin C through the activation of APX activity.

Keywords: preharvest factors, vitamin C, ascorbate peroxidase.

1. Introducción

El melocotonero y nectarino [*Prunus persica* (L.) Batsch] es el frutal de hueso más importante a nivel mundial, siendo el tercer árbol de fruta dulce cultivada tras el manzano y el peral [1]. Nutricionalmente, las nectarinas contienen compuestos bioactivos como polifenoles o vitaminas con alto potencial antioxidante [2]. El consumo de este tipo de compuestos reduce el riesgo de padecer enfermedades [3]. En este trabajo se seleccionó la variedad extratemprana "VioWhite 5", con calibre y características organolépticas adecuadas para el mercado

europeo. Sin embargo su cultivo sólo es posible en áreas con altas temperaturas e inviernos suaves, como la cuenca mediterránea. Estas zonas padecen importantes periodos de sequía [4]. Para compatibilizar su cultivo con la escasez de recursos hídricos se recurre a estrategias de riego deficitario controlado (RDC) [5,6]. Estudios previos han demostrado que el RDC permite la mejora de la calidad de la fruta mejorando el color de la piel, incrementado los sólidos solubles totales y por tanto, el sabor o reduciendo ataques fúngicos [7, 8, 9]. Además, se ha observado el fomento de la acumulación de compuestos

bioactivos [10, 11]. Estos compuestos bioactivos como el ácido ascórbico (AsA) pertenecen al sistema de defensa de la planta, sintetizándose cuando se detecta un ataque como puede ser un estrés abiótico como el estrés hídrico.

El objetivo de este estudio fue conocer el efecto del RDC sobre la nectarina extratemprana “VioWhite 5” durante un periodo de 3 años consecutivos, específicamente sobre el contenido en vitamina C y la respuesta de la enzima ascorbato peroxidase (APX).

2. Materiales y Métodos

El cultivo de nectarina “VioWhite 5” se desarrolló durante las campañas 2011-2013 en una parcela en plena producción (Molina de Segura, Murcia). Se aplicaron tres tratamientos de riego: testigo, regado al 100% de la evapotranspiración (ETC), RDC₁ y un RDC₂ (riego durante todo el ciclo como el testigo excepto el período postcosecha donde fue de un 84 y 60% del testigo, respectivamente).

Los frutos de cada tratamiento se trasladaron a la Planta Piloto del Grupo de Postrecolección y Refrigeración donde cada tratamiento de riego se almacenó durante 10 días a 0°C y 95% HR, seguidos de 3 días a 15°C y 75% HR de comercialización. En cada uno de ellos, se tomó muestra tanto de piel como de pulpa y se congeló con nitrógeno líquido y molió con un molinillo (IKA, A 11 basic, Berlin, Alemania) para su conservación a -80 °C. En los días 0 (inicial), 10 (fin de conservación) y 10+3 (fin de comercialización) se estudió la evolución de las siguientes respuestas:

2.1 Ascorbato peroxidasa (APX; EC 1.11.1.11)

La extracción de la enzima APX se llevó a cabo de acuerdo a lo descrito por Nakano y Asada [12]. Un gramo de tejido se agitó con un homogeneizador (Ultraturrax, T-25, IKA-WERKE, Germany) con 4 mL de una solución tampón de fosfato de sodio (50 mM; pH 7), que contenía ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (0,1 mM), ácido ascórbico (AsA; 1 mM) y polivinilpirrolidona (PVPP; 1%). A continuación, se centrifugó a 10.000 x g durante 20 min a 4 °C. El sobrenadante se purificó usando columnas PD10 (Sephadex G25, Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, USA). Todo el proceso se realizó en condiciones refrigeradas y oscuridad. Las medidas se realizaron con un espectrofotómetro de placas (Tecan Infinite M2000, Männedorf, Switzerland) a 290 nm. La actividad se expresó como U/mg proteína, donde una U de APX se definió como la cantidad de enzima necesaria que causa la

oxidación de 1 μmol de AsA por min a 30 °C ($\epsilon = 2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

2.2 Contenido en vitamina C

El procedimiento se llevó a cabo según Silveira et al. [13]. Se pesaron cinco gramos de muestra en tubos cónicos protegidos de la luz y se homogeneizaron (Ultraturrax, T-25, IKA-WERKE, Germany) durante 30 s. con 10 mL de una solución tampón de ácido cítrico (0,1 M ácido cítrico, 0,05% EDTA, 4 mmol/L NaF and 50 mL/L MeOH en agua nanopura). A continuación, se filtró con una gasa y se ajustó el pH con HCl (6 N) a 2,3-2,4. La muestra se extrajo en fase sólida con columnas Sep-Pak C18 (Waters, Mildford, MA) previamente activadas. 750 μL del extracto se guardó en un vial ámbar de 1,5 mL. Después, 250 μL de una solución de dihidroclorito 1,2-phenilenediamina (35 mg/100 mL) se añadió al vial que fue analizado tras 37 min de incubación a temperatura ambiente con un HPLC (Series 1100 Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania). El contenido total de vitamina C se expresó como la suma de AsA y ácido dehidroascórbico (DHA) en 100 g de peso fresco (p.f.).

3. Resultados y Discusión

Respecto a la enzima APX, se observó inicialmente una mayor actividad en piel, especialmente en las nectarinas sometidas a RDC₂ ($1,22 \pm 0,02 \text{ U/mg proteína vs. } 1,06 \pm 0,03$ y $0,67 \pm 0,04 \text{ U/mg proteína}$, para RDC₁ y testigo, respectivamente). En la pulpa, sin embargo, no se detectaron diferencias entre tratamientos en el día 0. Se observó una tendencia decreciente en todos los tratamientos, siendo RDC₂ el que mantuvo la mayor actividad tanto en piel como en pulpa (Fig. 1).

El contenido en vitamina C se analizó como la suma de sus dos formas biológicamente activas: AsA y DHA (Fig. 2). En el caso de AsA, la piel del tratamiento testigo alcanzó el mayor contenido al final de la simulación de comercialización ($17,87 \pm 0,01 \text{ mg AsA/100 g p.f. vs. } 12,92 \pm 0,41$ y $8,46 \pm 0,67 \text{ mg AsA/100 g p.f. de RDC}_1$ y RDC₂, respectivamente). Sin embargo, no se encontraron diferencias en las pulpas de ningún tratamiento. El comportamiento observado en DHA fue opuesto. La piel de las nectarinas sometidas a RDC₂ mostró un contenido mayor que el resto de tratamientos durante todo el experimento. Respecto a la vitamina C, RDC₂ presentó inicialmente la mayor concentración ($44,12 \pm 0,76 \text{ mg AsA/100 g p.f. vs. } 40,92 \pm 1,71$ y $36,26 \pm 0,74 \text{ mg AsA/100 g p.f. de la piel de RDC}_1$

y testigo, respectivamente). Estos valores mostraron una tendencia decreciente durante la conservación refrigerada y al final del estudio no se encontraron diferencias entre tratamientos (Fig. 2). La pulpa siguió la misma tendencia pero en un rango de concentración menor (Fig. 2).

La estimulación de la síntesis y acumulación de compuestos bioactivos mediante factores ambientales como puede ser el estrés hídrico, es una vía interesante para obtener productos nutricionalmente más sanos [14]. En vista de los resultados, el nivel de estrés afectó a la oxidación de AsA en DHA, a través de la activación de APX. En las nectarinas testigo, se encontró un mayor contenido en AsA que DHA, implicando una correlación negativa entre estas respuestas. Este hecho se debe a una mayor actividad de APX en los frutos sometidos a RDC. La tendencia decreciente citada en todos los tratamientos fue debida a los procesos de maduración y senescencia durante la conservación frigorífica y el periodo de comercialización [15].

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos confirman la existencia de estrés hídrico al aplicar RDC en la nectarina extratemprana. Este estrés indujo un cambio en la enzima APX y este cambio es dependiente de la duración e intensidad del RDC. En este sentido, los frutos sometidos a RDC tuvieron una mayor actividad de APX y un incremento de DHA, considerando por tanto a ambos como indicadores de estrés abiótico. La piel es el tejido que presenta mayor contenido y actividad frente a la pulpa por lo que es recomendable su consume. Además se produjo un considerable ahorro de agua: 780 and 2.050 m³/ha y año de RDC₁ y RDC₂, respectivamente. En definitiva, un manejo del estrés hídrico a través de estrategias de RDC promueve la síntesis de compuestos bioactivos en nectarina extratemprana.

5. Agradecimientos

Se agradece al Ministerio de Ciencia e Innovación-FEDER la financiación (proyecto AGL2010-19201-C04-02-AGR) y la beca predoctoral de N. Falagán, y al Instituto de Biotecnología Vegetal de la UPCT la utilización de algunos equipos.

6. Referencias bibliográficas

[1] Donoso Contreras, J.M. 2014. Genética de la introgresión de genes del almendro (*Prunus dulcis* Mill.) en el melocotonero [*P. persica* (L.)

Batsch]: desarrollo de una estrategia de selección de líneas casi isogénicas (Nils) con marcadores moleculares. Tesis doctoral.

[2] García-Parra, J., González-Cebrino, F., Delgado, J., Lozano, M., Hernández, T., Ramírez, R. 2011. Effect of thermal and high-pressure processing on the nutritional value and quality attributes of a nectarine purée with industrial origin during the refrigerated storage. *J. Food Sci.* 76: 618-625.

[3] Maasland, D.H., Van den Brandt, P.A., Kremer, B., Goldbohm, R.A., Schouten, L.J. 2015. Consumption of vegetables and fruits and risk of subtypes of head-neck cancer in the Netherlands Cohort Study. *Int. J. Cancer.* 136: 396-409.

[4] Iglesias, A., Garrote, L., Flores, F., Moneo, M. 2007. Challenges to manage the risk of water scarcity and climate change in the Mediterranean. *Water Resour. Manag.* 21: 775-788.

[5] Domínguez, A., De Juan, J.A., Tarjuelo, J.M., Martínez, R.S., Martínez-Romero, A. 2012. Determination of optimal regulated deficit irrigation strategies for maize in a semi-arid environment. *Agr. Water Manage.* 110: 67-77.

[6] Goldhamer, D.A. 1989. Drought irrigation strategies for deciduous orchards, Publ. no. 21453, Cooperative Extension, University of California, Division of Agriculture and Natural Resources.

[7] Crisosto, C.H., Johnson, R.S., Luza, J.G., Crisosto, G.M. 1994. Irrigation regimes affect fruit soluble solids concentration and rate of water loss of 'O'Henry' peaches. *HortScience.* 29: 1169-1171.

[8] Falagán, N., Artés, F., Gómez, P.A., Artés-Hernández, F., Conejero, W., Aguayo, E. 2014. Deficit irrigation strategies combined with controlled atmosphere preserve quality in early peaches. *Food Sci. Technol. Int.* DOI: 10.1177/1082013214553997.

[9] Mpelasoka, B.S., Behboudian, M.H., Mills, T.M. 2001. Effects of deficit irrigation on fruit maturity and quality of 'Braeburn' apple. *Sci. Hort.* 90: 279-290.

[10] Pérez-Pastor, A., Ruiz-Sánchez, M.C., Martínez, J.A., Nortes, P.A., Artés, F., Domingo, R. 2007. Effect of deficit irrigation on apricot fruit quality at harvest and during storage. *J. Sci. Food Agric.* 87, 2409-2415.

[11] Barbagallo, R.N., Di Silvestro, I., Patanè, C. 2013. Yield, physicochemical traits, antioxidant pattern, polyphenol oxidase activity and total visual quality of field-grown processing tomato

cv. Brigade as affected by water stress in Mediterranean climate. *J. Sci. Food Agric.* 93: 1449-1457.

[12] Nakano, Y., Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22: 867-880.

[13] Silveira, A.C., Aguayo, E., Artés, F. 2013. The suitability of three Galia melon cultivars and different types of cuts for the fresh-cut industry. *J. Sci. Food Agric.* 93: 3826–3831.

[14] Poiroux-Gonord, F., Bidel, L.P., Fanciullino, A.L., Gautier, H., Lauri-López, F., Urban, L. 2010. Health benefits of vitamins and secondary metabolites of fruits and vegetables and prospects to increase their concentrations by agronomic approaches. *J. Agric. Food Chem.* 58: 12065-12082.

[15] Gautier, H., Diakou-Verdin, V., Bénard, C., Reich, M., Buret, M., Bourgaud, F., Poëssel J.L., Caris-Veyrat, C., Génar M. 2008. How does tomato quality (sugar, acid, and nutritional quality) vary with ripening stage, temperature, and irradiance? *J. Agr. Food Chem.* 56: 1241–1250.

Figuras

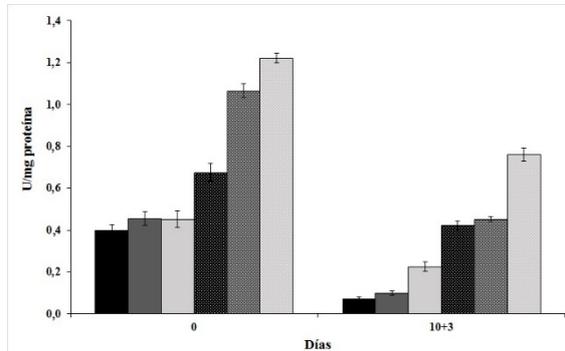


Figura 1. Actividad de la enzima APX en nectarinas “VioWhite 5” sometidas a tratamientos de riego: testigo, RDC₁ y RDC₂ y almacenadas durante 10 días a 0 °C más 3 días a 15 °C. Los datos representan la media de 3 repeticiones (n = 3 ± SE).

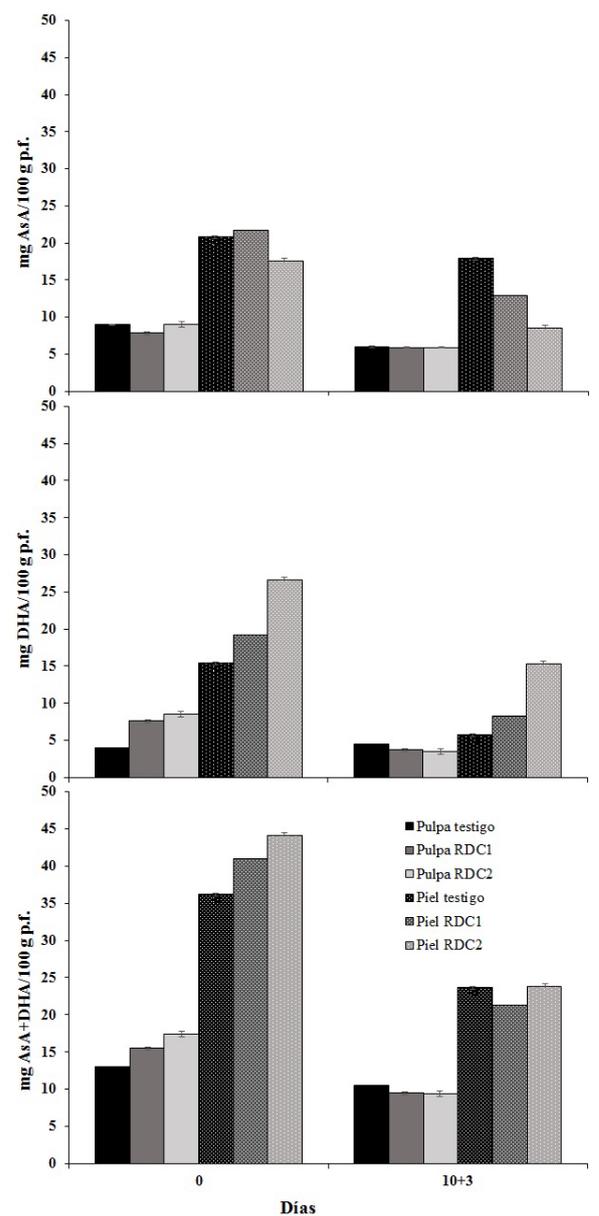


Figura 2. Contenido en vitamina C de nectarinas “VioWhite 5” sometidas a tratamientos de riego: testigo, RDC₁ y RDC₂ y almacenadas durante 10 días a 0 °C más 3 días a 15 °C. La vitamina C total se reportó como la suma de ácido ascórbico (AsA) y ácido dehidroascórbico (DHA) por 100 g de peso fresco (p.f.). Los datos representan la media de 3 repeticiones (n = 3 ± SE).