



MECANISMO DE ACCIÓN DE TRATAMIENTOS PRECOSECHA CON ÁCIDO SALICÍLICO PARA REDUCIR LA REVERSIÓN EN EL FRUTO DE ZARZAMORA

MECHANISM OF ACTION OF PREHARVEST TREATMENTS WITH SALICYLIC ACID TO REDUCE REVERSION IN BLACKBERRY FRUIT

Joel Ernesto Martínez Camacho*
Noelia Isabel Ferrusquía Jiménez
Irineo Torres Pacheco¹

¹Universidad Autónoma de Querétaro,
El Marqués, México

*qajoelmartinez@gmail.com





Abstract

Red drupelet reversion (RDR) is a physiological disorder that specifically affects blackberry fruit during marketing. It is characterized by a change in coloration from black to reddish in individual drupes, causing a decrease in their commercial value. The specific mechanism of this phenomenon is still under investigation, however, some reports suggest that the reversion is related to pigment degradation in the fruit, and may be aggravated by mechanical damage as well as storage conditions. Reports suggest that there is no significant alteration in the organoleptic properties of blackberry due to reversion, however, the resulting visual appearance impairs its visual appeal and, consequently, generates economic losses. In relation to this, recent research indicates that foliar treatments with salicylic acid (SA) in preharvest stages are effective in maintaining blackberry quality in postharvest. In the present work, a mechanism of action of salicylic acid in the preservation of blackberry was investigated

Resumen

La reversión (RDR, por las siglas en inglés *red drupelet reversion*) es un desorden fisiológico que afecta de manera específica a los frutos de zarzamora durante su comercialización. Se caracteriza por un cambio de coloración de negra a rojiza en las drupas individuales, provocando que disminuya su valor comercial. El mecanismo específico de este fenómeno aún es investigado, sin embargo, algunos reportes sugieren que la reversión está relacionada con la degradación de pigmentos en el fruto, y puede agravarse por el daño mecánico, así como las condiciones de almacenamiento. Los reportes sugieren que no existe una alteración significativa en las propiedades organolépticas de la zarzamora a causa de la reversión, empero, el aspecto visual resultante perjudica su atractivo visual y, por consecuencia, genera pérdidas económicas. En relación a esto, la investigación reciente apunta que los tratamientos foliares con ácido salicílico (As) en etapas precosecha son efectivos para mantener la calidad de la zarzamora en poscosecha. En el presente trabajo, se investigó y propuso un mecanismo de acción del ácido salicílico en la conservación de la zarzamora, con particular atención en la incidencia de reversión en el fruto.

Palabras clave: ácido salicílico, capacidad antioxidante, reversión, zarzamora.



and proposed, with particular attention to the incidence of reversion in the fruit.

Keywords: *Salicylic acid, antioxidant capacity, red drupelet reversion, blackberry.*

Introducción



Las zarzadoras son susceptibles de perder calidad durante su comercialización, principalmente porque el fruto se caracteriza por su piel delgada y propensa a sufrir daños mecánicos durante su manejo; adicionalmente, tiende a perder humedad rápidamente durante su almacenamiento. La reversión (RDR por las siglas en inglés de red drupelet reversion) constituye una de las mayores causas de pérdida en cuanto a atractivo comercial en poscosecha para las zarzadoras en fresco [1]. Se trata de un desorden fisiológico que altera el color de las drupas individuales del fruto, pasando de un color negro intenso a rojo [2]. Pese a los reportes de que la reversión no afecta significativamente las propiedades organolépticas de la zarzadora, como su contenido de azúcares o acidez [3]; este cambio de color afecta significativamente la percepción de la calidad de la fruta por parte de los consumidores [4].

El mecanismo específico de la reversión continúa sin ser descrito a completud; sin embargo, se sospecha que es resultado de una degradación en los pigmentos del fruto, específicamente las antocianinas [5]. Este decaimiento puede agudizarse por factores externos como la vibración [6], [7], las condiciones de almacenamiento y el manejo del fruto [8].

Debido a la fragilidad del fruto de zarzadora, existen limitaciones en los procesos y métodos implementables para mantener su calidad en poscosecha. En este sentido, la mayoría de los estudios en cuanto a la reversión se han enfocado en los efectos de: las condiciones de crecimiento y prácticas de cultivo ante el fenómeno [9], [10]; las condiciones de almacenamiento y la ocurrencia de la reversión [11], [12]; la reversión en las propiedades del fruto [13], y cómo se afecta la percepción del consumidor sobre la calidad de la zarzadora [4], [14]. Aunque comercialmente la RDR supone un desafío prevalente en el cultivo de zarzadora,



pocos trabajos ofrecen métodos para reducir su incidencia, y además se limitan a selección de cultivares y mejoramiento de variedades [15],[16].

Algunos tratamientos precosecha han mostrado potencial para mantener la calidad de los frutos en las etapas de almacenamiento. Por ejemplo, el rociado con ácido salicílico ha reportado mantener la calidad de frutas como uvas y fresas, debido a su acción reguladora del metabolismo vegetal. El tratamiento promueve la síntesis de compuestos fenólicos, activa los sistemas antioxidantes y fortalece la resistencia a patógenos [17]; además mantiene la firmeza y mitiga la pérdida de electrolitos [18]. Adicionalmente, la aplicación precosecha de dicho compuesto en zarzamora ha mostrado el aumento de actividad de enzimas antioxidantes y de biosíntesis de compuestos fenólicos, la reducción de la actividad de enzimas de degradación [21], así como el aumento de antocianinas y la disminución de la reversión en frutos de zarzamora [22].

El presente trabajo persigue los siguientes objetivos: describir el mecanismo de acción del ácido salicílico en la fisiología de la zarzamora e identificar la correlación entre los metabolitos especializados, sistemas antioxidantes enzimáticos y los factores de deterioro, incluyendo la reversión en la zarzamora.

Metodología y análisis estadístico

Ubicación y material vegetal

El lote experimental fue instalado en la comunidad de Senegal de las Palomas, municipio de San Juan del Río, Querétaro (20.436092, -100.085137). El material vegetal consistió en plantas de zarzamora cv. "Tupi" de 5-6 años de edad cultivadas bajo el sistema de riego por goteo, con una separación de 2.4 m entre hileras y una distancia de 80 cm entre plantas. Para el manejo agronómico del cultivo se llevaron a cabo labores culturales de: poda (activación, despunte, rebrote y mantenimiento), nutrición (foliar y al suelo), riego y desyerbe.

Aplicación de tratamientos

Las plantas fueron tratadas con ácido salicílico (AS, grado reactivo. J. T. Baker, USA) a una concentración de 3 mM. Los tratamientos se aplicaron a las hojas y frutos con ayuda de un aspersor de mano, y con un volumen de 1 litro por cada 80 plantas, dejando las hojas a punto de goteo. Las aplicaciones se llevaron a cabo entre las 7:00 y 8:00 am. Se adoptó un diseño experimental de bloques al azar con dos tratamientos y un



La reversión es un desorden fisiológico que afecta de manera específica a los frutos de zarzamora durante su comercialización.

Con este trabajo, se investigó y propuso un mecanismo de acción del ácido salicílico en la conservación de la zarzamora, con particular atención en la incidencia de reversión en el fruto.

control de agua destilada, con 3 repeticiones (28 plantas cada uno). Después de 5 horas de la aplicación de los tratamientos, se colectaron muestras de zarzamora en su punto comercial de maduración que cumplieran las siguientes características: sin evidencia de decoloración, daño mecánico ni enfermedad, con un color negro brillante, drupas completas y firmes, de fácil desprendimiento y ubicación similar respecto a la planta. Las muestras se colectaron en empaques termoformados (conocidos como clamshell) de PET comerciales con capacidad de 6 oz. Las muestras se mantuvieron entre 0 y 1 °C durante 12 horas, posteriormente se almacenaron a una temperatura ambiente promedio de 22 a 23 °C durante 132 horas. La unidad experimental para la determinación de vida de anaquel fue de 12 a 16 zarzamoras con 4 repeticiones por tratamiento. Después del periodo de almacenamiento, se tomaron muestras de manera aleatoria (3-4 zarzamoras por clamshell) y se almacenaron a -70 °C para su posterior análisis..

Determinación de reversión

El criterio para considerar que una zarzamora presentaba RDR fue que dos o más de sus drupas cambiaran su coloración de morado intenso a rojizo durante el almacenamiento (Figura 1). La cuantificación de este aspecto se reporta en porcentaje.

Figura 1. Reversión en frutos de zarzamora. Los círculos blancos indican frutos sanos. Flechas rojas indican presencia de reversión.



Determinación de variables en el fruto

La metodología para determinar la actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), fenilalanina amonio-liasas (PAL), poligalactu-



ronasa (PG), y para calcular el índice de comercialización (IC) y sus factores individuales (goteo y presencia de micelio) se reportó y describió a detalle previamente en Martínez Camacho et al. [21]. En síntesis, el tratamiento de AS se aplicó de manera foliar a plantas y frutos de zarzamora; posteriormente, se recolectaron y almacenaron los frutos y se determinó vida de anaquel. Después se efectuaron extractos enzimáticos de las muestras de zarzamora, los cuales se compararon con las curvas de calibración correspondientes para SOD y PAL. Respecto a CAT, la actividad se calculó por el método de coeficiente de extinción molar; en cuanto a PG, mediante una comparación contra una solución referencia de pectina. El cálculo del IC se computó integrando factores de deterioro individuales para la zarzamora (goteo, presencia de micelio y reversión). Las determinaciones para contenido total de antocianinas (TAC) y reversión (RDR) se reportaron a detalle previamente en [22]. En resumen, la determinación de TAC se realizó de manera espectrofotométrica mediante la metodología de cambio de color por pH. La determinación de RDR se realizó de manera visual y se expresó como porcentaje. La metodología para la obtención de datos para capacidad antioxidante (%DRSA), contenido de fenoles totales (TPC) y contenido de flavonoides totales (TFC) se incluye como material complementario. Para las variables SOD, CAT, PAL, TPC y TFC se determinó la existencia de diferencias estadísticas significativas mediante una comparación de medias de Tukey ($p = 0.05$). Para las variables IC y %DRSA, se realizó una comparación de medias de Tukey ($p = 0.05$) con valor transformado ($\log x$), utilizando el software JMP® v 12.1.0 (SAS Institute Inc., North Carolina, USA).

Los datos originales sin procesar de todas las variables antes mencionadas se utilizaron para las pruebas de correlación presentadas en este trabajo, en específico, una prueba de Spearman ($\alpha = 0.05$) en el software JMP® v 12.1.0 (SAS Institute Inc., North Carolina, USA).

Resultados y discusión

En [21] se reportó que el ácido salicílico implementado como tratamiento precosecha en zarzamora aumenta la vida de anaquel del fruto. Además, promueve la activación de enzimas del sistema antioxidante vegetal, como SOD y CAT; ambos compuestos se relacionan con el retraso de la senescencia, debido a su acción para contrarrestar los procesos oxidativos y el efecto de radicales libres en frutos. De manera similar, se reportó un aumento en la actividad de la enzima PAL, la cual se asocia a la síntesis de compuestos especializados de tipo fenólico en los frutos.



Adicionalmente, se observó una disminución en la actividad de la enzima PG; dicha baja se vincula con una disminución en los procesos de degradación y senescencia en frutos. El conjunto de estos factores puede haber contribuido a mantener la comerciabilidad de las zarzamoras por un mayor tiempo. Respecto al fenómeno de reversión, se reportó en [22] que los tratamientos de ácido salicílico redujeron la presencia de reversión en frutos de zarzamora almacenadas durante 144 h.

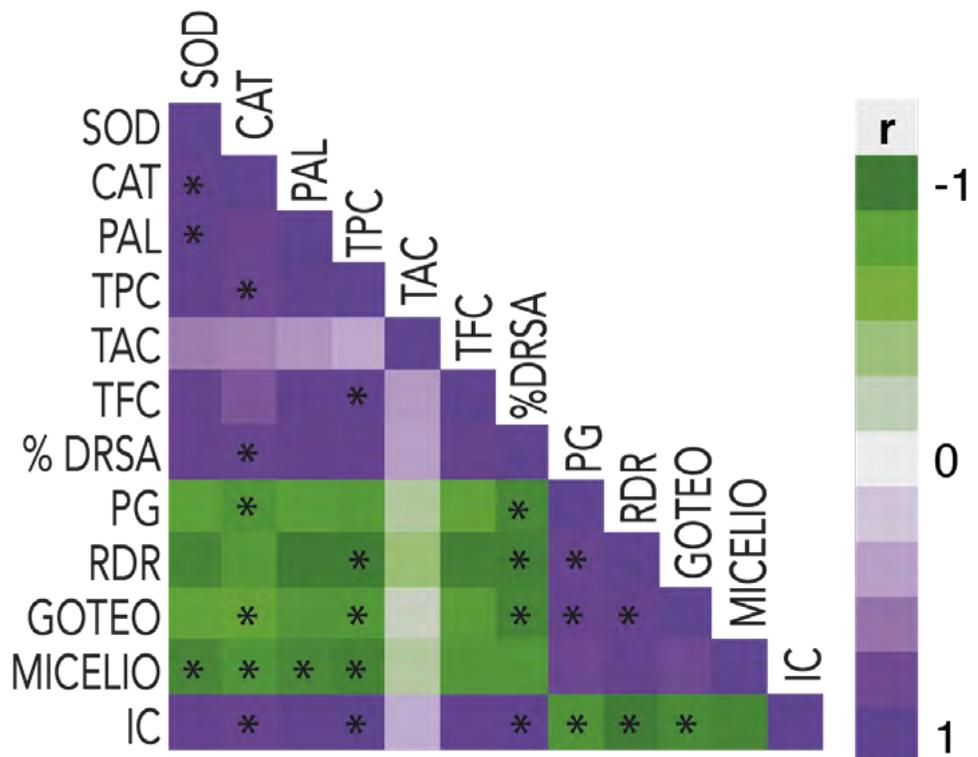
El objetivo de la presente investigación consiste en exponer un mecanismo de acción del ácido salicílico sobre la reversión en los frutos de zarzamora. A partir de reportes previos en tal fruto y otros similares, así como datos obtenidos en este trabajo, se realizó un análisis de correlación entre las variables estudiadas.

Correlación entre variables

La presencia de RDR en frutas tratadas con AS 3 mM mostró estar negativamente relacionada con TPC, DRSA y de manera positiva con la actividad de PG. Respecto a las enzimas antioxidantes, SOD mostró una correlación positiva con CAT y PAL. Por otra parte, se observaron correlaciones positivas entre la enzima CAT y la capacidad antioxidante del fruto de zarzamora. Adicionalmente, ambas variables mostraron una correlación negativa con la actividad de PG (Figura 2).

Figura 2. Heatmap para zarzamoras tratadas con AS 3mM en periodos pre cosecha. Abreviaciones: SOD = Superóxido dismutasa, CAT = Catalasa, PAL = Fenilalanina amonio-liasa, TPC = Contenido de fenoles totales, TAC = Contenido de antocianinas totales, TFC= Contenido de flavonoides totales, %DRSA = Capacidad antioxidante por DPPH, PG = Poligalacturonasa, RDR = Reversión, Micelio= Presencia visible de micelio, IC= Índice de comercialización.

* Indica correlación estadística significativa, prueba de Spearman con $\alpha=0.05$, $N=36$.

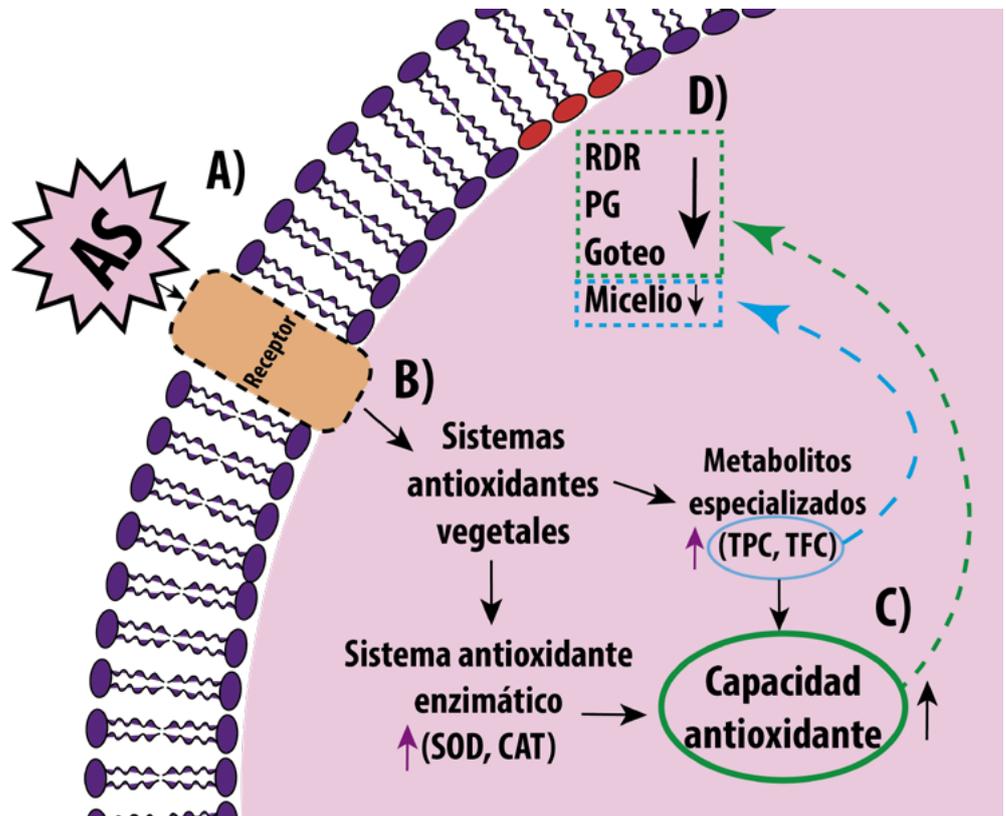


Respecto a los compuestos bioactivos, TPC mostró una relación positiva con CAT y con TFC. Las variables de deterioro, goteo y presencia de micelio mostraron una relación negativa con CAT y TPC. De manera individual, la presencia de micelio evidenció relacionarse negativamente con la actividad de SOD y PAL.

Finalmente, el índice de comercialización en los frutos entabló una relación positiva con CAT, TPC y DRSA. Por otra parte, la actividad de PG, presencia de goteo y ocurrencia de RDR con el índice de comercialización fueron negativas.

El análisis de correlación sugiere que la presencia reducida de RDR podría estar ligada a la activación de los sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos por acción del ácido salicílico; otro efecto aparente del tratamiento es la disminución en la actividad de la enzima poligalacturonasa (Figura 3).

Figura 3. Representación gráfica del mecanismo de acción del ácido salicílico sobre frutos de zarzamora. A) Aplicación precosecha de ácido salicílico exógeno, B) Activación de sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, C) Aumento de capacidad antioxidante, D) Disminución de RDR, goteo, presencia de microorganismos y actividad de la poligalacturonasa.



El aumento en la capacidad antioxidante de los frutos se relaciona con la conservación de su calidad, debido a la mitigación de los efectos adversos causados por las especies reactivas de oxígeno y al fortalecimiento de la pared celular [27]; tal incremento también podría estar relacionado con la reducción en el goteo y de RDR.

Respecto a los bioactivos TFC y TPC, se ha reportado que la abundancia de compuestos fenólicos en frutos promueve la protección contra procesos



oxidativos [24]; además, dichos compuestos poseen propiedades antimicrobianas [25]; el conjunto de estas capacidades contribuye a reducir la presencia de organismos de degradación, reforzar la pared celular y disminuir la actividad de PG en los frutos [26].

El índice de comercialización se ve perjudicado por la actividad de PG, que a su vez está relacionada con la presencia de goteo y RDR. Tal interacción sugiere que el debilitamiento o degradación de la pared celular hace más propensa a la zarzamora a presentar dichas afectaciones. Por el contrario, el aumento en el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante estaría relacionado con la generación de resistencia contra factores de deterioro y, en todo caso, la conservación de calidad de la zarzamora en poscosecha, incluyendo la reducción de la presencia de RDR.

Conclusiones

La información disponible y el resultado del análisis de correlación sugiere que el tratamiento precosecha con ácido salicílico presenta efectos positivos para evitar el fenómeno de reversión y promover la conservación de la zarzamora. Por añadidura, el mecanismo de acción podría estar relacionado con el aumento de la actividad de los sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, así como la reducción de la actividad de enzimas de degradación como la poligalacturonasa.

Referencias

- [1] M. Edgley, D. Close, and P. Measham, "Red drupelet reversion in blackberries: A complex of genetic and environmental factors," *Scientia Horticulturae*, vol. 272, p. 109555, 2020.
- [2] T. M. Chizk, J. R. Clark, C. Johns, L. Nelson, H. Ashrafi, R. Aryal, and M. L. Worthington, "Genome-wide association identifies key loci controlling blackberry postharvest quality," *Frontiers in Plant Science*, vol. 14, p. 1182790, 2023.
- [3] M. Edgley, D. Close, P. Measham, and D. Nichols, "Physiochemistry of blackberries (*Rubus* l. subgenus *Rubus watson*) affected by red drupelet reversion," *Postharvest Biology and Technology*, vol. 153, pp. 183–190, 2019.
- [4] R. Threlfall, A. Dunteman, J. Clark, and M. Worthington, "Using an online survey to determine consumer perceptions of fresh-market blackberries," in *XII International Rubus and Ribes Symposium*:



Innovative Rubus and Ribes Production for High Quality Berries in Changing 1277, 2019, pp. 469–476.

- [5] A. R. Flores-Sosa, D. Soto-Magaña, L. E. Gonzalez-de la Vara, L. Sanchez-Segura, M. Bah, D. M. Rivera-Pastrana, G. M. Nava, and E. M. Mercado-Silva, "Red drupelet reversion in blackberries caused by mechanical damage is not linked to a reduction in anthocyanin content," *Postharvest Biology and Technology*, vol. 180, p. 111618, 2021.
- [6] G. Pérez-Pérez, M. Fabella-Gallegos, M. Vázquez-Barríos, D. Rivera-Pastrana, L. Palma-Tirado, E. Mercado-Silva, and V. Escalona, "Effect of the transport vibration on the generation of the color reversion in blackberry fruit," in *viii International Postharvest Symposium: Enhancing Supply Chain and Consumer Benefits-Ethical and Technological Issues* 1194, 2016, pp. 1329–1336.
- [7] A. R. Flores-Sosa, M. J. Fabella-Gallegos, M. E. Cruz-Acevedo, D. M. Rivera-Pastrana, G. M. Nava, and E. M. Mercado-Silva, "A portable vibration system to induce and evaluate susceptibility to red drupelet reversion in blackberry cultivars," *Horticulturae*, vol. 8, no. 7, p. 631, 2022.
- [8] M. Edgley, D. C. Close, and P. F. Measham, "Effects of climatic conditions during harvest and handling on the postharvest expression of red drupelet reversion in blackberries," *Scientia Horticulturae*, vol. 253, pp. 399–404, 2019.
- [9] M. Edgley, D. Close, and P. Measham, "Nitrogen application rate and harvest date affect red drupelet reversion and postharvest quality in 'ouachita' blackberries," *Scientia Horticulturae*, vol. 256, p. 108543, 2019.
- [10] B. Lawrence and J. C. Melgar, "Harvest, handling, and storage recommendations for improving postharvest quality of blackberry cultivars," *HortTechnology*, vol. 28, no. 5, pp. 578–583, 2018.
- [11] J. E. McCoy, J. R. Clarke, A. A. Salgado, and A. Jecmen, "Evaluation of harvest time/temperature and storage temperature on postharvest incidence of red drupelet reversion development and firmness of blackberry (*rubus* l. subgenus *rubus* watson)," *Discovery, The Student Journal of Dale Bumpers College of Agricultural, Food and Life Sciences*, vol. 17, no. 1, pp. 59–65, 2016.
- [12] M. E. Armour, M. Worthington, J. R. Clark, R. T. Threlfall, and L. Howard, "Effect of harvest time and fruit firmness





- on red drupelet reversion in blackberry," *HortScience*, vol. 56, no. 8, pp. 889–896, 2021.
- [13] M. J. Kim, M. Y. Lee, J. C. Shon, Y. S. Kwon, K.-H. Liu, C. H. Lee, and K.-M. Ku, "Untargeted and targeted metabolomics analyses of blackberries—understanding postharvest red drupelet disorder," *Food chemistry*, vol. 300, p. 125169, 2019.
- [14] R. T. Threlfall, J. R. Clark, A. N. Dunteman, and M. L. Worthington, "Identifying marketable attributes of fresh-market blackberries through consumer sensory evaluations," *HortScience*, vol. 56, no. 1, pp. 30–35, 2021.
- [15] A. A. Salgado and J. R. Clark, "'crispy' blackberry genotypes: A breeding innovation of the university of arkansas blackberry breeding program," *HortScience*, vol. 51, no. 5, pp. 468–471, 2016.
- [16] A. L. Myers, R. T. Threlfall, L. R. Howard, C. R. Brownmiller, J. R. Clark, M. L. Worthington, and S. Lafontaine, "Identifying unique quality attributes of arkansas-grown fresh-market blackberries," *ACS Food Science & Technology*, vol. 3, no. 5, pp. 816–830, 2023.
- [17] C. Chen, C. Sun, Y. Wang, H. Gong, A. Zhang, Y. Yang, F. Guo, K. Cui, X. Fan, and X. Li, "The preharvest and postharvest application of salicylic acid and its derivatives on storage of fruit and vegetables: A review," *Scientia Horticulturae*, vol. 312, p. 111858, 2023.
- [18] E. Baninaiem and A. M. Dastjerdi, "Enhancement of storage life and maintenance of quality in tomato fruits by preharvest salicylic acid treatment," *Frontiers in Sustainable Food Systems*, vol. 7, p. 1180243, 2023.
- [19] Z. Han, B. Li, D. Gong, P. Xie, L. Yu, Y. Wang, Y. Han, Y. Li, D. Prusky, G. Romanazzi et al., "Preharvest chitooligosaccharide spray alleviates chilling injury in harvested muskmelon fruit by regulating membrane lipid metabolism and activating antioxidant enzyme activity," *Postharvest Biology and Technology*, vol. 204, p. 112452, 2023.
- [20] Z. Li, X. Xu, S. Xue, D. Gong, B. Wang, X. Zheng, P. Xie, Y. Bi, and D. Prusky, "Preharvest multiple sprays with chitosan promotes the synthesis and deposition of lignin at wounds of harvested muskmelons," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 206, pp. 167–174, 2022.
- [21] J. E. Martínez-Camacho, R. G. Guevara-González, E. Rico-García, E. G. Tovar-Pérez, and I. Torres-Pacheco, "Delayed senescence and marketability index preservation of blackberry fruit by



- preharvest application of chitosan and salicylic acid," *Frontiers in plant science*, vol. 13, p. 796393, 2022.
- [22] J. M. Camacho, D. M. Sabogal, I. C. Valenzuela, and I. T. Pacheco, "Efecto de tratamientos precosecha en la reversión y contenido de antocianinas del fruto de zarzamora (*rubus* sp.)," *Perspectivas de la Ciencia y la Tecnología*, vol. 5, no. 9, pp. 11–18, 2022.
- [23] Y. Niu, L. Ye, Y. Wang, Y. Shi, Y. Liu, and A. Luo, "Improvement of storage quality of 'hayward' kiwifruit by meja combined with sa treatment through activation of phenylpropane metabolism," *Scientia Horticulturae*, vol. 321, p. 112354, 2023.
- [24] K. A. Marak, H. Mir, P. Singh, M. W. Siddiqui, T. Ranjan, D. R. Singh, M. H. Siddiqui, and M. Irfan, "Exogenous melatonin delays oxidative browning and improves postharvest quality of litchi fruits," *Scientia Horticulturae*, vol. 322, p. 112408, 2023.
- [25] Y. Song, Y. Ren, Y. Xue, D. Lu, T. Yan, and J. He, "Putrescine (1, 4-diaminobutane) enhances antifungal activity in postharvest mango fruit against *colletotrichum gloeosporioides* through direct fungicidal and induced resistance mechanisms," *Pesticide Biochemistry and Physiology*, p. 105581, 2023.
- [26] M. A. Khan, M. Azam, S. Ahmad, and M. Atiq, "Improvement of physicochemicals, antioxidant system and softening enzymes by postharvest l-arginine application leads to maintain persimmon fruit quality under low temperature storage," *Journal of Food Measurement and Characterization*, pp. 1–14, 2023.
- [27] A. Njie, X. Dong, Q. Liu, C. Lu, X. Pan et al., "Melatonin treatment inhibits mango fruit (cv. 'guiqi') softening by maintaining cell wall and reactive oxygen metabolisms during cold storage," *Postharvest Biology and Technology*, vol. 205, p. 112500, 2023.

