



Sociedad
Española
de **Ciencias
Hortícolas**

86

**OCTUBRE
2021**

ACTAS DE HORTICULTURA

**Comunicaciones Técnicas
Sociedad Española de
Ciencias Hortícolas**

**XVI Congreso Nacional de
Ciencias Hortícolas**

**Córdoba
17-21 de octubre de 2021**

Fenotipado de la oxidación de la carne en manzana cortada mediante análisis de imagen

Miranda, C.^{*1,2}, Arellano, J.², Irisarri P.^{3,4}, Navarro J.A.², Castel, L.^{3,4}, Errea, P.^{3,4}

¹Instituto de Investigación Multidisciplinar en Biología Aplicada (IMAB), Universidad Pública de Navarra (UPNA), Campus de Arrosadia, 31006 Pamplona.

²Departamento de Agronomía, Biotecnología y Alimentación, Universidad Pública de Navarra (UPNA), Campus de Arrosadia, 31006 Pamplona.

³Unidad de Hortofruticultura, CITA, Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza

⁴Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Zaragoza.

Autor para correspondencia: carlos.miranda@unavarra.es

Palabras clave: Pardeamiento enzimático, caracterización, fenotipado, manzana

Resumen

El pardeamiento enzimático (PE) es uno de los principales problemas que afectan a la calidad y limitan la vida útil de la fruta mínimamente procesada. El PE se suele medir de forma objetiva con colorímetros, cuyo uso práctico para el fenotipado de grandes cantidades de fruta se ve limitado por la velocidad de pardeamiento, la irregularidad de la intensidad de PE sobre la superficie cortada, y el que el área de medida es muy pequeña. En un proyecto previo (RTA2015-00052-C02-00) se demostró que el análisis de imagen de fotografías digitales de alta resolución de lotes de frutos facilitaba el fenotipado masivo del PE, generando una prueba de concepto del proceso, que se ha desarrollado en el seno del proyecto APPLICUT (PID2019-108081RR-C22), creando una metodología completa y automatizada para el análisis del PE en lotes de fruta. En este trabajo se presenta la metodología desarrollada, que se aplica a 57 accesiones de manzana tradicional de las colecciones de UPNA y CITA, así como a 11 variedades de referencia con grado de PE conocido. El PE se evaluó en lotes de 10 frutos por variedad, a los que se tomaban fotografías a intervalos regulares desde justo después del corte hasta una hora después. El flujo de trabajo automatizado desarrollado para el análisis identificaba los frutos presentes en las fotos y obtenía el valor medio de color CIELab de toda la superficie expuesta para cada uno. La intensidad del PE se calculó ajustando curvas de regresión del cambio de color desde el momento del corte. Se observó un amplio rango de intensidades de PE, con diferencias de hasta cinco veces entre las variedades con más y menos PE. El amplio rango de situaciones permitió definir cinco clases de intensidad del PE. Se han encontrado variedades tradicionales con PE bajos o muy bajos y comparables a los de las referencias con menos PE. Los resultados muestran el potencial del germoplasma tradicional para diversificar la oferta varietal e introducir nuevas características en mejora.

INTRODUCCIÓN

El pardeamiento enzimático (PE) es uno de los principales problemas que afectan a la calidad y limitan la vida útil de la fruta mínimamente procesada. El PE se suele medir de forma objetiva con colorímetros, cuyo uso práctico para el fenotipado de grandes cantidades de fruta se ve limitado por la velocidad de pardeamiento, la irregularidad de la intensidad de PE sobre la superficie cortada, y el que el área de medida es muy pequeña. En un proyecto previo (RTA2015-00052-C02-00) se demostró que el análisis de imagen de fotografías digitales de

alta resolución de lotes de frutos facilitaba el fenotipado masivo del PE, generando una prueba de concepto del proceso, que se ha desarrollado en el seno del proyecto APPECUT (PID2019-108081RR-C22), creando una metodología completa y automatizada para el análisis del PE en lotes de fruta (Miranda et al., 2019). En este trabajo se presenta la metodología desarrollada, que se aplica a 57 variedades de manzana tradicional de las colecciones de UPNA y CITA, así como a 11 variedades de referencia con grado de PE conocido, seleccionadas tras un análisis previo de diversidad genética y que forman parte de la selección de un conjunto mínimo de accesiones que optimiza la representatividad de la variación genética del manzano conservado en las colecciones españolas (Miranda et al. 2018).

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Durante la campaña 2020 se evaluaron 19 variedades locales la colección de la UPNA (Pamplona) y 38 de Aragón de la colección del CITA (Zaragoza), junto con 11 variedades comerciales de referencia. Los frutos se cosecharon en el momento en que su madurez, según el índice de almidón CTIFL superaba el valor 6, ya que minimiza la influencia del estado de maduración sobre el nivel de oxidación (Fig. 1), y se conservaron en cámara frigorífica a 5°C durante una semana antes de realizar la caracterización.

Determinación del nivel de oxidación

La determinación del nivel de oxidación se hizo mediante análisis de imagen a partir de fotografías realizadas en condiciones estandarizadas. El sistema de adquisición de imágenes consistió en una cámara digital Olympus OM-D MKII con un objetivo macro de 30 mm 1:3.5, disparando en RAW. Las muestras se iluminaron con paneles LED Nanguang CN-576C ajustados a 4400 K y dispuestos para proporcionar una iluminación uniforme y evitar las sombras. Se incluyó una placa de comprobación de color en cada fotografía para facilitar el balance de blancos y las correcciones de color. Se colocaron lotes de 10 mitades inferiores de fruta bajo la cámara y se tomaron 10 fotografías a los 0, 5, 10, 15, 25, 30, 45 y 60 minutos después del corte. Se utilizó un script de evaluación del color para el software de análisis de imágenes de código abierto Fiji (Schindelin et al., 2012) que automatizaba el proceso de extracción del fondo y la identificación de las mitades individuales de la fruta, transformaba la imagen RGB original en imágenes que contenían los valores de color L^* , a^* y b^* y obtenía el promedio de los valores de color de toda la superficie de la fruta. El pardeamiento en cada momento de muestreo se calculó como la diferencia de color CIE normalizada (ΔE^*) desde el momento del corte. Se ajustaron relaciones de regresión logarítmica entre ΔE^* y el tiempo tras el corte para cada fruto, y se obtuvieron los valores ajustados correspondientes a los minutos 30 y 60.

Clasificación de las variedades en niveles de oxidación

Los valores de oxidación ajustados se emplearon para clasificar las variedades por niveles de oxidación a los 30 minutos (D30) y a los 60 minutos (D60) empleando la metodología de Royo et al (2017), en la que las clases se definen en función de la variabilidad existente dentro y entre variedades. El proceso se ha realizado mediante scripts de R que automatizan el proceso de cálculo y clasificación.

RESULTADOS Y DISCUSION

Se observó un amplio rango de intensidades de PE en las variedades analizadas (Fig. 2), con diferencias de hasta cinco veces entre las variedades con menos PE (Golden, Royal Gala) y las que más (U_257, C_196). Media hora tras el corte, los niveles medianos de oxidación (D30) estuvieron en el rango 4,3-25,5, mientras que una hora tras el corte (D60) el rango fue 5,4-29,0. El aumento del nivel de oxidación dependió de la variedad, de forma que los valores

de D30 en la mayor parte de las variedades fueron un 80-90% de los observados al final. Los niveles de oxidación de las variedades de referencia comercial estaban de acuerdo con lo que se describe de ellas en la bibliografía disponible. Se han encontrado variedades tradicionales con PE bajos o muy bajos (C_116, U_134) y comparables a los de las referencias con menos PE. El amplio rango de situaciones encontrado permitió definir cinco clases de intensidad del PE en los dos tiempos evaluados, y, en la mayor parte de los casos, las variedades quedaron clasificadas en los dos momentos dentro de la misma categoría. Como se puede observar en la Fig. 2, las siete variedades que cambiaron de clase en D60 estaban en D30 en los límites (inferior o superior) de la clase asignada en ese momento. Así pues, los resultados obtenidos hasta el momento sugieren que, a la hora de caracterizar variedades por su nivel de PE, bastaría con obtener los valores a la media hora tras el corte. Los resultados muestran el potencial del germoplasma tradicional para diversificar la oferta varietal e introducir nuevas características en mejora.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido financiada por el proyecto INIA RTA2015-00052-C02-00 y el proyecto PID2019-108081RR-C22 financiado por MCIN/ AEI /10.13039/501100011033.

Referencias

- Miranda, C., Errea, P., Urrestarazu, J., Pina, A., Pereira-Lorenzo, S., Dapena, E., Urbina, V., Moreno, M.A., Diaz-Hernandez, M.B., Ramos-Cabrer, AM., Ascasibar, J., Espiau, M.T., Reig, G., Dalmases, J., Santesteban, L.G., Laquidain, M.J., Royo, B. 2018. Definición del núcleo optimizado de la colección de conservación del manzano español. *Acta Horticultura*. 80, pp. 67 - 71.
- Miranda, C., Urrestarazu, C., Arellano, J., Santesteban, L.G., Royo, J.B. 2019. Flesh browning phenotyping in apple through image analysis. XV EUCARPIA Fruit Breeding and Genetics Symposium. 3-7 junio, Praga. Rep. Checa.
- Royo, J.B.; Miranda, C., Santesteban, L., Laquidain, M., Urrestarazu, J., Urbina, V., Dalmases, J., Dapena, E., Fernandez, M., Blázquez, D., Pereira-Lorenzo, S., Diaz, M., Ramos-Cabrer, A.M., Ascasibar, J., Errea, P., Sanzol, J., Pina, A., Espiau, M., Moreno, A., Gogorcena, Y., Blanco, A., (2017). Harmonized methodology for the pomological characterization of apple (*Malus × domestica* Borkh). *Monografías INIA. Serie Agrícola* 29, ISSN 1575-6092, Madrid (Spain), 122p.
- Schindelin, J.; Arganda-Carreras, I. Frise, E. et al. (2012), Fiji: an open-source platform for biological-image analysis, *Nature methods* 9(7): 676-682.

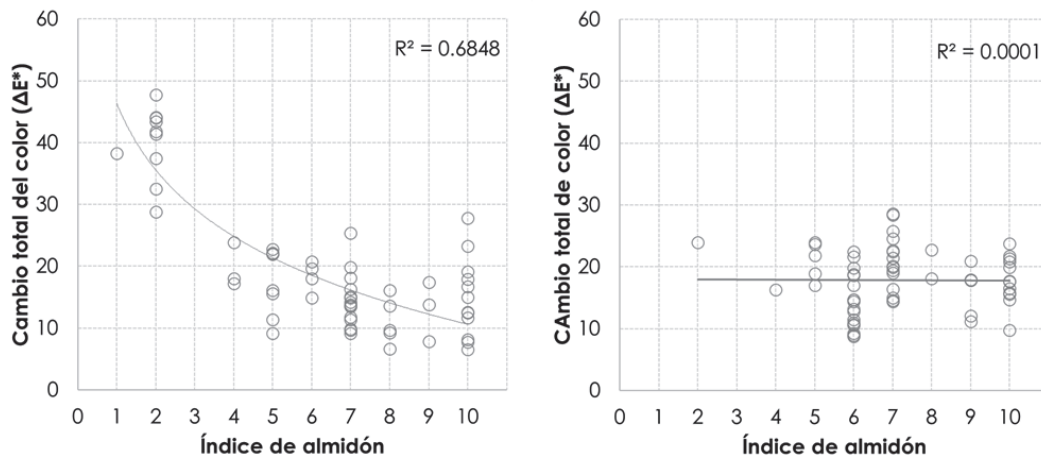


Fig. 1. Influencia del estado de maduración sobre el nivel de oxidación de la carne. Izda: patrón de alta influencia. Dcha: patrón de baja influencia

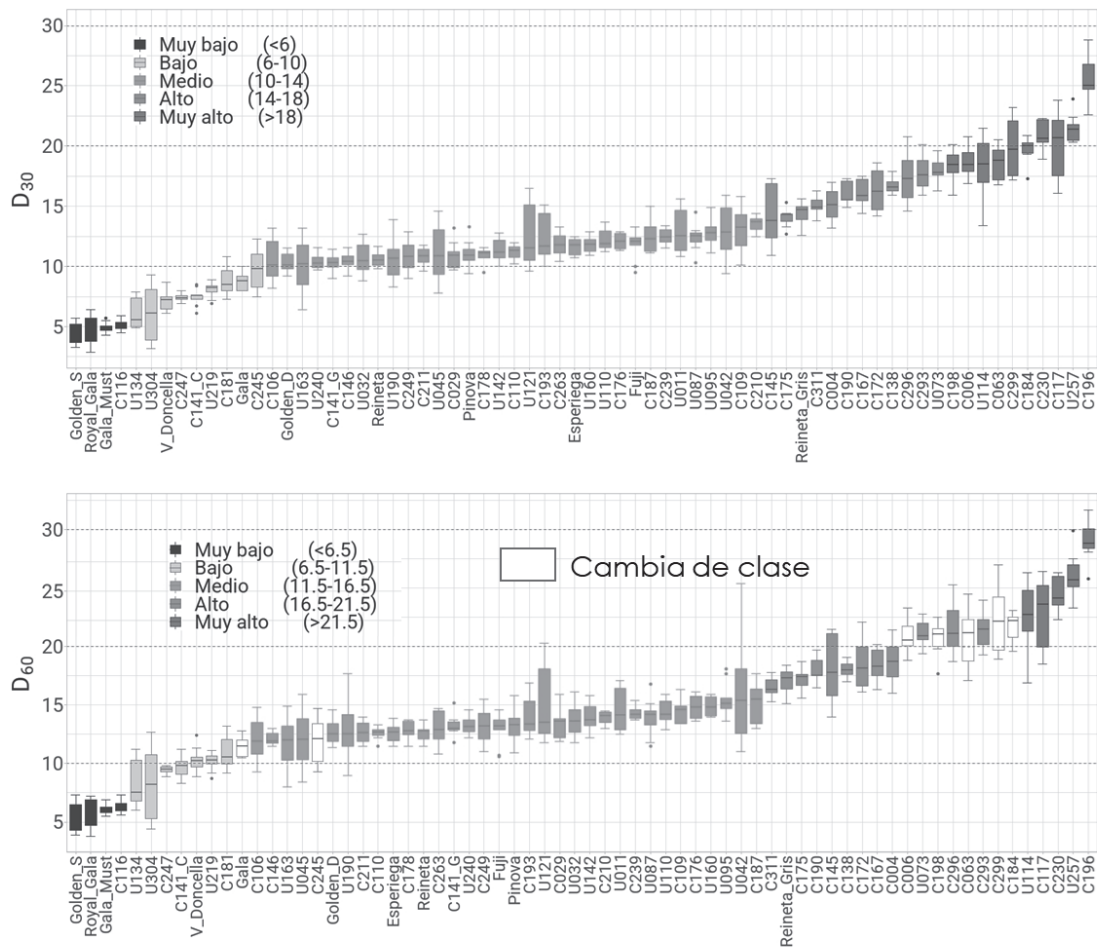


Fig. 2. Clasificación de las accesiones según su nivel de oxidación a los 30 minutos tras el corte (arriba) y 60 minutos tras el corte (abajo), indicando qué variedades cambian de categoría entre los dos momentos de observación.