

Histological characterization of table olive fruit bruising cv. Manzanilla de Sevilla

R. Jiménez¹, M. P. Suárez¹, P. Rallo¹, H. Rapoport², M. Galindo¹, A. M. Morales-Sillero¹ and L. Casanova¹

⁽¹⁾ Departamento de Ciencias Agroforestales, ETSIA. Universidad de Sevilla. Ctra. Utrera Km 1. 41013, Sevilla. e-mail: rjg@us.es

⁽²⁾ Instituto de Agricultura Sostenible-CSIC. Apartado 4084, 14080 Córdoba.

Resumen

Actualmente el sector del olivar en España incluye dos subsectores claramente diferenciados por su aprovechamiento: el olivar de almazara y el de mesa o verdeo, cada uno con unas particularidades específicas que los diferencian, tales como variedades empleadas y técnicas de cultivo como la poda o la recolección. En los últimos años, la necesidad de optimizar los costes de producción ha generalizado la recolección mecanizada mediante brazos vibradores o máquinas cabalgadoras en explotaciones de olivar de aceite. Sin embargo, no se ha extendido de igual manera en plantaciones de aceituna de mesa, debido a los altos porcentajes de frutos dañados por los golpes que se producen durante la recolección mecanizada.

El *molestado*, manchas oscuras en la parte externa del exocarpo de los frutos, hace referencia a los daños provocados en los frutos por los golpes durante la recolección, más notables en la recolección mecánica. Estas manchas deprecian el fruto a nivel comercial con el consecuente rechazo del consumidor. No todos los cultivares presentan la misma susceptibilidad al molestado. ‘Manzanilla de Sevilla’, variedad por excelencia de aceituna de mesa, es considerada sensible al molestado lo que dificulta su recolección por medios mecánicos.

El Departamento de Ciencias Agroforestales de la Universidad de Sevilla empezó a trabajar en el año 2003 en un programa de mejora genética de olivo para mesa. Una de las líneas de trabajo dentro de este proyecto ha consistido en estudiar diferentes parámetros de calidad, entre los que se encuentra el molestado. En colaboración con el Instituto de Agricultura Sostenible-CSIC, se ha desarrollado una metodología para evaluar el mismo en aceituna de mesa.

En este trabajo se describe anatómicamente el molestado en frutos frescos de ‘Manzanilla de Sevilla’, después de un golpe inducido, a los 30 minutos y 24 horas del impacto y fijados posteriormente con FAE (formalina, ácido acético, etanol del 95% y agua destilada (10:5:50:35 v/v/v/v)). Se han evaluado histológicamente los cambios (rupturas celulares y pérdida de grosor en paredes celulares) que se producen en el mesocarpo de las zonas dañadas. Las observaciones histológicas han revelado diferencias en los daños para los dos momentos evaluados. La presencia de rupturas celulares y la pérdida de grosor de las paredes celulares, en las zonas dañadas, han sido más evidentes a las 24 horas tras el golpe.

Palabras clave: *Olea europaea* L., recolección mecanizada, molestado, calidad en aceituna de mesa.

Abstract

Currently olive growing in Spain includes two main industries: olive oil and table olives, each of which has its own peculiarities, such as different varieties and specific performance of cultivation techniques like pruning or harvesting. In recent years, due to the need of reducing production costs, mechanical harvesting using trunk shakers or straddle harvesters has become widespread in olive oil orchards. However, that is not the case in table olive plantations, due to the high percentage of fruit damaged by the impacts that take place during mechanical harvesting.

The term fruit *bruising*, dark spots on the outside of the fruit exocarpo, refers to the fruit damage caused by impacts during collection, most notably in mechanical harvesting. These spots decrease commercial fruit value, being rejected by the consumer. Not all cultivars have the same fruit bruise susceptibility. Manzanilla de Sevilla, Spanish leading table olive cultivar, is considered to be sensitive to bruising being therefore difficult to harvest by mechanical devices.

Researchers from the Departamento de Ciencias Agroforestales at the University of Seville, Spain, are working since 2003 on a table olive breeding program. One of the research lines within the program has been to study

different table olive quality parameters, including fruit bruising. An evaluation methodology is being developed to assess this phenomenon in collaboration with the Instituto de Agricultura Sostenible-CSIC.

This paper describes anatomical changes related to fruit bruising in 'Manzanilla de Sevilla' fresh fruits after an induced impact. Bruised fruits were chemically fixed in FAE (formalin, acetic acid, 95% ethanol and distilled water (10:5:50:35 v/v/v/v)) 30 minutes and 24 hours after the impact. Histological changes (cell breakage, loss of cell wall thickness and higher colour intensity) produced in the mesocarp of the damaged areas have been evaluated. Histological observations revealed differences between the evaluated times. The presence of cell ruptures and the loss of thickness in the cell walls, in the damaged areas, has been most evident at 24 hours after the impact.

Keywords: *Olea europaea* L., mechanical harvesting, bruising, quality table olives.

Introducción

La demanda de productos de alta calidad es actualmente uno de los aspectos más importantes para la industria Agroalimentaria. La apariencia externa de la aceituna es el factor decisivo en la determinación de la calidad del fruto (Riquelme *et al.*, 2008), por lo que el molestado o manchas oscuras en el exocarpo de los frutos, es considerado uno de los factores limitantes en la producción de aceituna de mesa, y uno de los aspectos cruciales para implantar la recolección mecanizada en el sector. Desde 2009, el Departamento de Ciencias Agroforestales de la Universidad de Sevilla, en colaboración con el IAS-CSIC, ha evaluado histológicamente el molestado en aceituna de mesa y ha desarrollado una metodología histológica válida para describir el molestado provocado por un golpe inducido.

El objetivo principal de este trabajo ha sido estudiar el daño producido en los frutos sin aderezar (frescos) de 'Manzanilla de Sevilla', un cultivar importante de aceituna de mesa, considerado sensible al molestado. Concretamente, se describen cualitativamente los tipos de daños que se visualizan en los cortes histológicos de las zonas dañadas, después de 30 minutos y 24 horas del golpe inducido.

Material y Métodos

Se recogieron a mano frutos frescos de 'Manzanilla de Sevilla' en una finca comercial de la Carlota (Córdoba), en septiembre de 2010, en su momento óptimo de madurez (IM=1), (Ferreira, 1979). Fueron seleccionados 30 frutos no dañados de esta variedad y, mediante un dispositivo de impacto, se dejaron caer desde una altura de un metro sobre una plataforma de metal acolchada (Menesatti y Paglia, 2001). En dos momentos, a 30 minutos y 24 horas tras el golpe, 15 frutos por tiempo fueron fijados en FAE (formalina, ácido acético, 95% de etanol y agua destilada (10:5:50:35 v/v/v/v)) (Berlyn y Mikshe, 1976). Sólo aquellos frutos que presentaron un impacto en las zonas laterales del fruto fueron seleccionados para el estudio histológico. Del total de frutos fijados se tomaron al azar 10 frutos por cada momento para su procesamiento histológico. Los frutos se sometieron a una rehidratación y recorte de las zonas molestadas y de las no dañadas por el golpe (Jiménez *et al.*, 2011). Posteriormente, las muestras fueron sometidas a un proceso de deshidratación (Berlyn y Mikshe, 1976), infiltración e instalación en bloques de parafina, corte en microtomo de rotación (con un grosor de 12 µm), montaje de cintas y tinción con azul de toluidina (0,05%) durante 60 minutos (Sakai, 1973). Para las observaciones y captación de las imágenes se utilizó un microscopio óptico Nikon y un procesador Leica Qwin acoplado al microscopio para la captura de imágenes.

Resultados y Discusión

Las visualizaciones realizadas en los cortes histológicos de las zonas dañadas de los frutos frescos (sin aderezar) de 'Manzanilla de Sevilla', ponen de manifiesto diferencias histológicas entre los tiempos analizados (Figuras 1b y 1d). Se han observado, además, dos tipos de daños en las zonas molestadas: rupturas celulares (Figuras 1b y 1d) y pérdida de grosor en las paredes celulares (Figuras 2a y 2b). Las rupturas celulares (daños físicos) han sido visibles pocos minutos después del golpe (30 minutos) (Figura 1b), aumentando considerablemente con el tiempo (24 horas) (Figura 1d). Asimismo, la pérdida de grosor observada en las paredes celulares de las zonas afectadas por el golpe han sido también visualizadas en ambos momentos, siendo más intensas a las 24 horas del golpe (Figuras 2a y 2b). Para ambos tiempos se observó que las rupturas celulares (Figuras 1b y 1d) y la pérdida

de grosor (Figuras 2a y 2b) no afectan a la epidermis, sino que la parte dañada por el impacto se localiza siempre hacia el interior de los frutos.

Figura 1. Cortes histológicos de frutos frescos (sin aderezar) de ‘Manzanilla de Sevilla’ de zonas no molestadas a 30 minutos (a) y 24 horas tras el impacto (c). Cortes histológicos de frutos frescos (sin aderezar) de ‘Manzanilla de Sevilla’ de zonas dañadas a 30 minutos (b) y 24 horas tras el impacto (d). En ambos tiempos, se puede apreciar la presencia de rupturas celulares (←) a lo largo del mesocarpo (b y c), siempre hacia el interior de la epidermis (←⋯), sin afectarla.

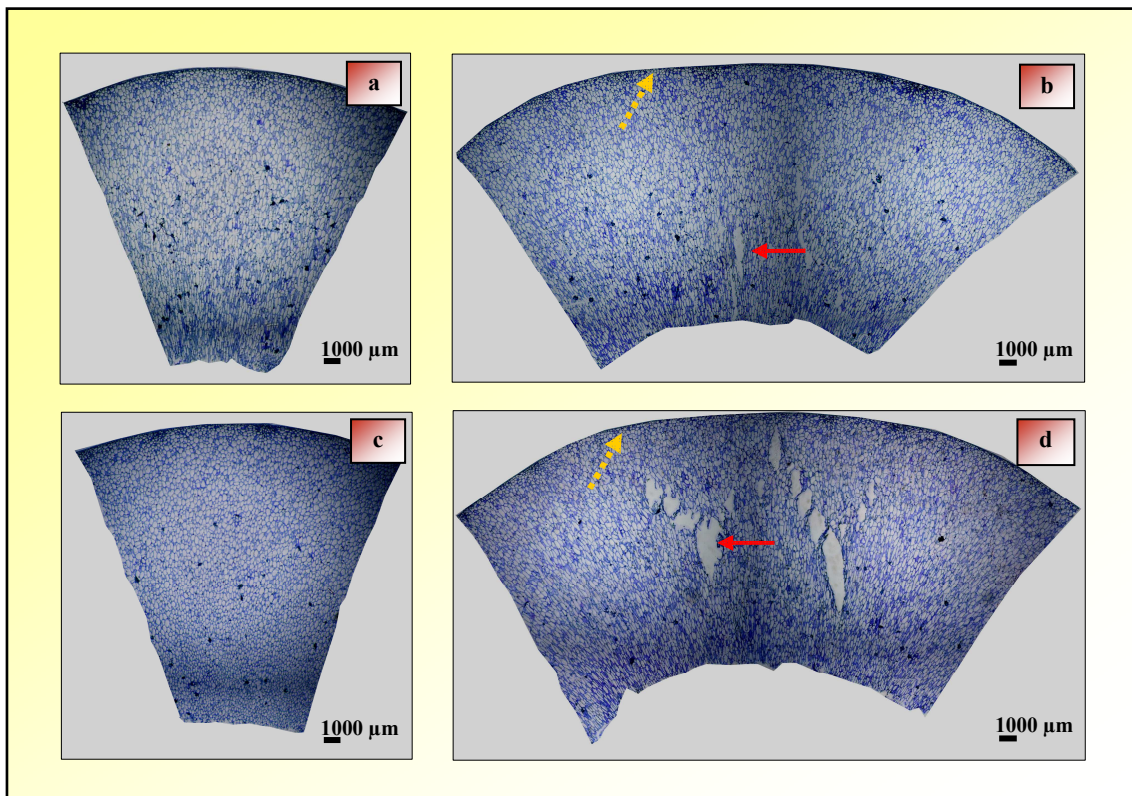
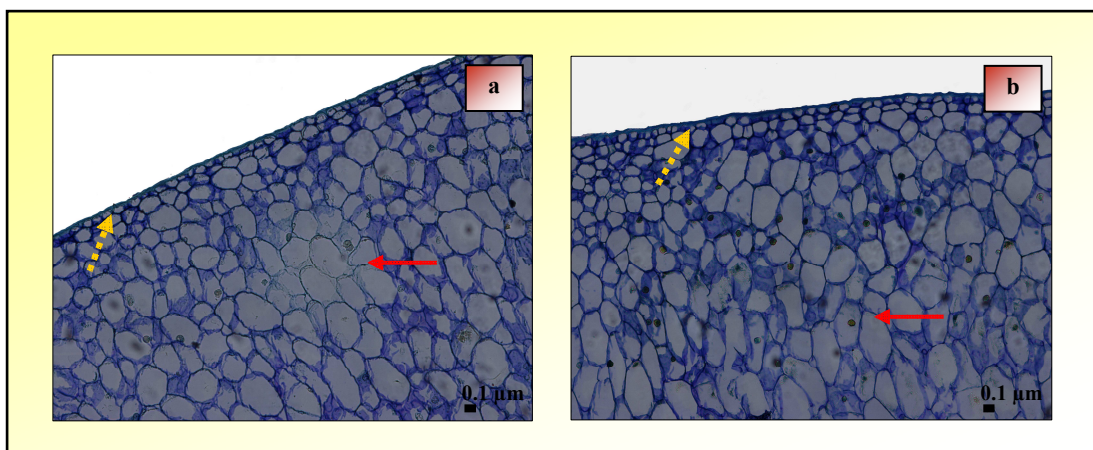


Figura 2. Cortes histológicos de frutos frescos (sin aderezar) de ‘Manzanilla de Sevilla’ a las 24 horas del impacto (a y b), donde se puede apreciar la pérdida de grosor (←) de la pared celular en las zonas dañadas por el golpe. En ambas secciones histológicas (a y b) se puede observar que esta pérdida de grosor no afecta a la epidermis de los frutos (←⋯), sino que se visualiza siempre hacia el interior de los frutos.



Se observa que los daños físicos (rupturas celulares) son consecuencia directa del impacto sufrido por los frutos (Jiménez *et al.*, 2011). A medida que aumenta el tiempo (24 horas) desde el golpe los daños se incrementan, lo que provoca una importante merma en la calidad final de los frutos. Estos resultados coinciden en parte con otros trabajos realizados sobre molesto en recolección mecanizada, utilizando vibradores de troncos (Castro-García *et al.*, 2010). Los daños ocasionados por los golpes, son visibles en los frutos pocos minutos después de la recolección, aumentando con el tiempo.

La pérdida de la integridad celular sucede de forma natural durante los procesos de maduración o como consecuencia de daños mecánicos, que provocan la ruptura de la célula (Putra *et al.*, 2010). La pérdida de grosor de las paredes celulares encontrada en las secciones histológicas a las 24 horas del impacto (Figuras 2a y 2b) refleja también que, con el tiempo, se incrementan este tipo de daños en las zonas molestadas. Esta pérdida, ha resultado ser menos intensa a los 30 minutos del golpe, que a las 24 horas. Esto es debido a que todos los procesos que se desarrollan en las zonas implicadas a consecuencia del golpe, tienen más tiempo para progresar (Jiménez, 2013). Como consecuencia de ello, las rupturas celulares y pérdida de grosor aumentan con el tiempo (24 horas).

Conclusiones

Las observaciones histológicas realizadas a frutos frescos de ‘Manzanilla de Sevilla’, han reflejado diferentes tipos de daños físicos (rupturas celulares y pérdida de grosor) en aquellas zonas dañadas por un golpe inducido. En los dos tiempos analizados después del golpe (30 minutos y 24 horas), se han observado los mismos tipos de daños físicos. A las 24 horas después del impacto, las rupturas celulares y la disminución del grosor de las paredes celulares de las zonas molestadas han sido mucho más evidentes que a los 30 minutos. Ambos tipos de daños son visibles a lo largo del mesocarpo afectado por el golpe y siempre hacia el interior de los frutos, sin afectar a la epidermis de los mismos.

Agradecimientos

Al Ministerio de Ciencia e Innovación y fondos FEDER, por financiar los proyectos AGL2007-65184-C02-02 y AGL2009-07248.

Bibliografía

- Berlyn, G. P. and Miksche, J. P. (1976). Botanical microtechnique and cytochemistry. 3rd Ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.
- Castro-García, S., Blanco-Roldán, G. L., Gil-Ribes, J. A. y Jiménez-Jiménez, F. (2010). Análisis de los daños producidos en la aceituna de mesa (variedad Manzanilla) durante el proceso de recolección mecanizada con vibradores de troncos. III Jornadas Internacionales de la aceituna de mesa, Sanlúcar la Mayor (Sevilla). Libro de Ponencias y Comunicaciones: n° 29 (p. 54).
- Ferreira, J. (1979). Explotaciones olivereras colaboradoras, N° 5. Ministerio de Agricultura. Madrid.
- Jiménez, R. (2013). Optimización de métodos de evaluación de progenies en un programa de mejora de aceituna de mesa. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla.
- Jiménez, R., Rallo, P., Suárez, M. P., Casanova, L., Morales-Sillero, A. M. y Rapoport, H. F. (2011). Estudios histológicos del “molesto” en aceituna de mesa. XV Simposium Científico-Técnico. Expoliva 2011. 1-6p.
- Menesatti, P. and Paglia, G. (2001). Postharvest technology: development of a drop damage index of fruit resistance to damage. Journal of Agricultural Engineering Research **80** (1): 53-64.
- Putra, E. T. S., Zakaria, W., Abullah, N. A. P. and Saleh, G. (2010). Cell Ultrastructure and Pell Nutrient Content of Neck Zone in Six Cultivars of Musa sp. Fruit During ripening. International Journal of Botany, **6** (1): 47-52.
- Riquelme, M. T., Barreiro, P., Ruiz-Altisent, M. and Valero, C. (2008). Olive classification according to external damage using image analysis. Journal of Food Engineering **87**: 371-379.
- Sakai, W. S. (1973). Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue O. Stain Technology **48** (5): 247-249.