

El rol de los factores epigenéticos en la calidad nutraceutica de los frutos de calafate (*Berberis microphylla* G. Forst.) de la Patagonia

ME. Arena^{1,2}

¹Laboratorio de Fisiología Vegetal, FICA, Universidad de Morón, Machado 914, Morón (B1708EOH), Buenos Aires, Argentina.

²CONICET.

E-mail: miriamearena@gmail.com

Resumen

Berberis microphylla G. Forst. es un arbusto cuyas pequeñas bayas púrpuras son consideradas como productos forestales no madereros y como alimentos funcionales que son consumidos en diversos productos. El factor ambiental como un efector epigenético puede manifestarse en la composición de diferentes órganos como los frutos, jugando así un rol significativo en la regulación del metabolismo primario y secundario de las plantas. El objetivo de este estudio fue evaluar la composición cuali-cuantitativa de los carbohidratos, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en plantas de *B. microphylla* que fueron cultivadas en forma experimental bajo tres intensidades de luz (24, 57 y 100% de la luz natural) y tres niveles de fertilización inorgánica (0,0; 3,4 y 6,7 g de fertilizante por planta). Los fertilizantes utilizados fueron nitrato de amonio (NO_3NH_4), superfosfato triple de calcio ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$) y sulfato de potasio (SO_4K_2). La composición cuali-cuantitativa de los hidratos de carbono, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos y actividad antioxidante de los frutos de *B. microphylla* mostraron cambios con la intensidad de luz y el nivel de fertilización. Los frutos de las plantas cultivadas bajo intensidad de luz alta (con mayor temperatura del aire y del suelo), y con los mayores niveles de fertilización presentaron el mayor contenido de sólidos solubles, azúcares simples, antocianinas y fenoles totales. A su vez, los frutos de las plantas cultivadas bajo dichas

condiciones presentaron la menor acidez total titulable, y en particular los menores contenidos de ácido málico y relación ácido málico/ácido cítrico, así como de fibra dietaria total. El efecto secuestrador de los radicales DPPH fue máximo en los frutos de las plantas cultivadas bajo intensidad de luz alta. Los cambios observados en las variables estudiadas muestran la presencia de una "aclimatación o plasticidad fenotípica" de las plantas de *B. microphylla*. Además, al valor funcional de los frutos obtenidos en el ensayo experimental fue comparable al de los frutos de la población natural.

Palabras claves: hidratos de carbono, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos, actividad antioxidante, ambiente.

Introducción

La capacidad de adaptación de las plantas a diversas condiciones ambientales como la luz, la humedad y el nivel de nutrientes en el suelo, determinan los procesos de crecimiento y desarrollo (Liefers et al., 1999; Heinemann et al., 2000; Lencinas et al., 2007). El factor ambiental como un efector epigenético puede manifestarse en la composición de diferentes órganos como los frutos (Abd El-Razek et al., 2011; Lobos et al., 2013). Es así que las condiciones ambientales juegan un rol significativo en la regulación del metabolismo primario y secundario de las plantas (De Bolt et al., 2008). El conocimiento de la composición química de los frutos, y de manera particular el conocimiento cuali y cuantitativo

de sus hidratos de carbono, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos y de los factores que sobre éstos influyen, resulta relevante no sólo por el valor funcional de los frutos sino porque tales contenidos permiten determinar el momento óptimo de cosecha (Vicente *et al.*, 2009; Etienne *et al.*, 2013). El contenido de los azúcares simples de las frutas es influenciado por la señal de azúcar, nutrientes, reguladores del crecimiento vegetal y factores físicos que afectan el transporte de azúcar, el metabolismo, la acumulación y la relación entre ellos (Zhi *et al.*, 2004). A su vez, los ácidos orgánicos juegan un rol importante con respecto al establecimiento de la relación de contenido de azúcares/ácidos orgánicos, ya que es determinante del sabor de los frutos y vegetales (Vicente *et al.*, 2009). Los factores agro-ambientales que tienen mayor impacto en la acidez de la fruta son la relación fuente: destino en la planta, la fertilización mineral, el suministro de agua, la temperatura (Etienne *et al.*, 2013), los hidratos de carbono (Zhi *et al.*, 2004) y la ontogenia. A su vez, los factores genéticos y epigenéticos tales como las etapas de maduración del fruto, las condiciones ambientales durante el crecimiento de las mismas y las prácticas culturales empleadas, todos juntos influyen en la síntesis de los compuestos fenólicos (Kähkönen *et al.*, 2001; Ferreyra *et al.*, 2007) y en la constitución de su capacidad antioxidante (Roussos *et al.*, 2009).

Es importante considerar el microclima en la zona de los arbustos al momento de establecer las prácticas de manejo en la parte aérea de los mismos. La exposición al sol de las hojas determina la eficiencia fotosintética, mientras que la exposición al sol de los frutos puede impactar en su calidad de forma diferencial, como por ejemplo en los contenidos de acidez total titulable, sólidos solubles, color y contenido de antocianinas, aroma y sabor (Vance *et al.*, 2013). La reducción de la intensidad de luz y la modificación de su calidad mediante el empleo de mallas media sombra tienen la capacidad de retrasar la maduración de los frutos en algunos cultivos (Rylski y Spigelman, 1986a; b; Marini *et al.*, 1991), y por consiguiente pueden afectar la calidad de los frutos como se ha encontrado en *Vaccinium* sp. (Lobos *et al.*, 2013). En las distintas especies vegetales, la biosíntesis de las antocianinas es influenciada por una serie de factores ambientales como ser la exposición a la

luz solar, la radiación UV, la temperatura y la disponibilidad de agua, produciendo cambios cuali y cuantitativos en este grupo de compuestos fenólicos. Es así que algunos frutos necesitan de luz para la síntesis de antocianinas, mientras que otros, como los frutos de *Vitis vinifera*, pueden acumular antocianinas con o sin luz (He *et al.*, 2010). Al igual que la luz solar, la temperatura es otro factor que afecta la síntesis de antocianinas. Temperaturas cercanas a los 25 °C favorecen la síntesis de antocianinas en *Vitis*, mientras que temperaturas cercanas a 35 °C afectan su acumulación y favorecen su degradación. Sin embargo, temperaturas nocturnas elevadas inhiben la acumulación de las antocianinas (He *et al.*, 2010), por lo que entonces se pone de manifiesto el rol de la amplitud térmica diaria en la acumulación de estos compuestos.

Por otro lado, también se ha mencionado el efecto de la aplicación de fertilizantes sobre diversos parámetros de calidad de frutos, siendo muy contradictorio según las especies y dosis de los elementos nutritivos aportados. El aporte de fertilizantes no afectó la capacidad antioxidante de los frutos de *Fragaria x ananassa* (World y Opstad, 2007) y *Vitis vinifera* (Abd El-Razek *et al.*, 2011), pero por el contrario sí lo hizo en *Fragaria x ananassa* según los resultados de Wang y Lin (2003), mientras que en los frutos de *Vitis vinifera* influyó sobre el contenido de antocianinas (He *et al.*, 2010). El objetivo propuesto fue evaluar la composición cuali-cuantitativa de los hidratos de carbono, ácidos orgánicos y compuestos fenólicos, así como la actividad antioxidante de los frutos de *B. microphylla* en diferentes intensidades de luz y niveles de fertilización durante dos estaciones de crecimiento.

Materiales y Métodos

Se emplearon plantas de *B. microphylla* G. Forst. obtenidas de una población natural ubicada en las cercanías de la ciudad de Ushuaia, Tierra del Fuego (54° 48´ LS, 68° 19´ LO, 30 msnm), y que fueron cultivadas en forma experimental bajo tres intensidades de luz dadas por el empleo de una malla media sombra de rafia negra (24, 57 y 100% de la luz natural), tres niveles de fertilización inorgánica (0,0; 3,4 y 6,7 g de fertilizante por planta) y durante dos estaciones de crecimiento (2008/09, "1^{era}" y 2009/10, "2^{da}"). Los fertilizantes utilizados fueron nitrato de

amonio (NO_3NH_4), superfosfato triple de calcio ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$) y sulfato de potasio (SO_4K_2). Las plantas se colocaron en macetas (1 planta por maceta) de polietileno negro (12 l), conteniendo el mismo suelo (7 kg) donde crecía la población de la cual se obtuvieron las plantas. Las condiciones ambientales registradas en cada condición de luz se describen en la **Tabla 1**. Durante la primera quincena de febrero, se cosecharon todos los frutos de las plantas de cada tratamiento ($n = 30$), con excepción de las plantas crecidas en baja intensidad de luz que no formaron frutos. Parte de los frutos fueron inmediatamente utilizados para la determinación de los sólidos solubles (SS), acidez total titulable (ATT) y pH según la metodología propuesta por Arena y Curvetto 2008, mientras que otra parte fueron congelados a -18°C de temperatura, para posteriormente determinar los hidratos de carbono como los azúcares simples (AS), fibra dietaria total (FDT), fibra dietaria soluble (FDS) y fibra dietaria insoluble (FDI), los ácidos orgánicos totales (AOT) como cítrico (AC), fumárico (AF), málico (AM), oxálico (AO) y tartárico (AT), los compuestos fenólicos como antocianinas (A), flavonoides (FL) y fenoles totales (FE) y el efecto secuestrador de los radicales DPPH y poder reductor (PR) (metodologías descritas en Arena, 2016). Los datos fueron analizados por ANOVA de dos y tres vías, y las medias fueron luego separadas usando el test de comparaciones múltiples de Tukey a $p \leq 0,05$. Los coeficientes de correlación lineal y análisis de regresión fueron hechos entre algunos pares de variables.

Resultados

Los SS, ATT, SS/ATT y pH variaron significativamente con la intensidad de luz (**Tabla 2**), siendo máximos los valores de estas variables en alta intensidad de luz, a excepción de la ATT. Los SS variaron entre 13,5 y 16,6 °Brix para media y alta intensidad de luz respectivamente, mientras que la ATT lo hizo entre 3,1 y 2,5% para media y alta intensidad de luz respectivamente, resultando la relación SS/ATT entre 4,4 y 7,3 para media y alta intensidad de luz respectivamente. El pH osciló entre 2,78 y 2,82 para media y alta intensidad de luz respectivamente. Los SS, ATT, SS/ATT y el pH variaron significativamente con el nivel de fertilización (**Tabla 2**). Los SS fueron máximos con el mayor nivel de fertilización (15,9 °Brix), mientras que la ATT lo fue sin fertilización (3,2%), lo

que llevó a una máxima relación SS/ATT de 7,6 con el nivel de fertilización 2, al igual que el pH (2,8). Los SS, ATT, SS/ATT y el pH variaron significativamente entre las estaciones de crecimiento (**Tabla 2**). Los SS variaron entre 17,6 y 12,5 °Brix, mientras que la ATT lo hizo entre 2,6 y 3,1, resultando la relación SS/ATT entre 7,6 y 4,2 respectivamente, para la 1^{era} y 2^{da} estación, respectivamente. El pH osciló entre 2,84 y 2,76 para la 1^{era} y 2^{da} estación, respectivamente. Se encontraron interacciones significativas entre los factores estudiados y para las variables mencionadas (**Tabla 2**), excepto para la relación SS/ATT, principalmente debido a incrementos diferenciales en los valores entre los factores principales y diferencias entre combinaciones. Así los SS sólo mostraron diferencias significativas entre los niveles de fertilización en los frutos de intensidad de luz alta, mientras que en cuanto a nivel de fertilización los SS sólo variaron en la 1^{era} estación. Por otro lado, las diferencias en los SS entre las intensidades de luz fueron mayores en la 1^{era} estación con respecto a la 2^{da} estación. Las diferencias en la ATT entre las estaciones de crecimiento fueron mayores en intensidad de luz alta con respecto a intensidad de luz media. Una disminución en los SS con una menor intensidad de luz también se ha observado en frutos de *Prunus* sp. (Marini *et al.*, 1991) y *Vitis vinifera* (Chorti *et al.*, 2010). El efecto de niveles crecientes de nitrógeno, fósforo y potasio sobre los sólidos solubles ha sido contradictorio y dependiente de la especie. En *Vaccinium angustifolium* (Albert *et al.*, 2011) y *Vitis vinifera* (Martin *et al.*, 2004) niveles crecientes de nitrógeno, fósforo y potasio aumentaron los valores de los sólidos solubles, mientras que en *Aronia melanocarpa* y *Malus domestica* (Jeppsson, 2000) produjeron una disminución de los mismos. Los valores de los SS encontrados en los frutos en el tratamiento con alta intensidad de luz y sin fertilizante fueron comparables con los obtenidos en años anteriores en la población natural de *B. microphylla* (Arena y Curvetto, 2008), aunque algo menores que los citados para esta especie (33° Brix) en el sur de Chile (Arribillaga García, 2001).

Los AS y la FDI variaron significativamente con la intensidad de luz (**Tabla 3**). Los AS variaron entre 6,4 y 13,2 g/100 g peso fresco para intensidad de luz media y alta respectivamente, mientras que la FDI lo hizo entre 9,7 y 9,1 g/100 g peso fresco con intensidad de luz para

media y alta respectivamente. La FDT y la FDS variaron significativamente con el nivel de fertilización (**Tabla 3**), siendo máximas con el nivel de fertilización 0 (13,3 y 4,3 g/100 g peso fresco, respectivamente). Los AS, FDT y la FDI variaron significativamente con la estación de crecimiento (**Tabla 3**), alcanzando valores máximos en la 1^{era} estación (11,5 13,5 y 9,9 g/100 g peso fresco). Para los AS y la FDT se encontraron interacciones significativas entre los factores estudiados (**Tabla 3**). En alta intensidad de luz, los AS aumentaron con el nivel de fertilización, mientras que en media intensidad de luz disminuyeron con el nivel de fertilización. En alta intensidad de luz, la FDT disminuyó con el nivel de fertilización, y en media intensidad de luz aumentó con el nivel de fertilización. Una disminución en los AS con una menor intensidad de luz se ha observado en frutos de *Vitis vinifera* (Dokoozlian y Kliewer, 1996). Los valores de AS encontrados en los frutos en el tratamiento con alta intensidad de luz y sin fertilizante fueron comparables con los obtenidos en años anteriores en la población natural de *B. microphylla* (Arena y Curvetto, 2008).

El AM, AOT y AM/AC variaron significativamente con la intensidad de luz (**Tabla 4**), siendo máximos los valores de estas variables en media intensidad de luz. El AM varió entre 7,6 y 4,8 g/100 g peso fresco para media y alta intensidad de luz respectivamente, mientras que los AOT lo hicieron entre 10,1 y 7,3 g/100 g peso fresco para media y alta intensidad de luz respectivamente, variando la relación entre los AM/AC entre 5,7 y 3,6 para media y alta intensidad de luz respectivamente. La relación AM/AC varió significativamente con el nivel de fertilización, siendo máximo con el nivel de fertilización 0 (5,8) (**Tabla 4**). Los ácidos AF y AM y la relación AM/AC variaron significativamente entre las estaciones de crecimiento (**Tabla 4**). El AF varió entre 0,006 y 0,017 g/100 g peso fresco para la 1^{era} y 2^{da} estación, respectivamente, mientras que el AM lo hizo entre 5,4 y 7,0 g/100 g peso fresco para para la 1^{era} y 2^{da} estación, respectivamente, dando un valor para la relación entre los AM/AC de 4,0 y 5,3 para la 1^{era} y 2^{da} estación, respectivamente. Un aumento en el AM pudo observarse al final de la maduración de los frutos de *Vitis vinifera* crecidos en ambientes sombreados (DeBolt et al., 2008). Es sabido además que en aquellas regiones más frescas, los frutos de *Vitis vinifera* producen frutos

con mayores contenidos de AM con respecto a los frutos crecidos en regiones más cálidas. Esta relación negativa entre la temperatura y el nivel de AM es debida al efecto de la temperatura sobre el balance entre la síntesis de AM (por la vía de la beta carboxilación del fosfoenolpiruvato) y su catabolismo durante la respiración y en particular sobre la actividad enzimática. Sin embargo, otras vías como una disminución en la traslocación desde las hojas a los frutos juegan un papel importante. Adicionalmente, la acumulación de potasio en los frutos suele resultar en la formación de sales de AM y AT, dando una reducción del contenido de ácidos totales (Conde *et al.*, 2007). En los frutos de *Ribes nigrum* también se ha encontrado una correlación negativa entre la temperatura y el contenido de AM en los frutos (Toldam-Andersen y Hansen, 1997). Sin embargo, tal variación no se ha detectado para el AC coincidiendo con lo encontrado para *Ribes nigrum* (Toldam-Andersen y Hansen, 1997).

Los contenidos de A y FE variaron significativamente con la intensidad de luz (**Tabla 5**), siendo máximos los valores de estas variables en intensidad de luz alta. El contenido de A varió entre 103,8 y 299,7 mg/100 g peso fresco para intensidad de luz media y alta respectivamente. El contenido de FE varió entre 693,8 y 906,6 mg de equivalentes de ácido tánico/100 g peso fresco para intensidad de luz media y alta respectivamente. Los contenidos de FL no variaron significativamente con la intensidad de luz (**Tabla 5**). El contenido de FL fue máximo en aquellos frutos cuyas plantas no fueron fertilizadas (200,2 mg (+)- equivalentes de catequina/100 g peso fresco, mientras que el contenido de FE fue máximo con el nivel de fertilización 2 (856,1 mg de equivalentes de ácido tánico/g peso fresco). Los contenidos de A, FL y FE variaron significativamente con la estación de crecimiento (**Tabla 5**), siendo los contenidos de A (350,0 mg/100 g peso fresco) y FE (890,0 mg equivalentes de ácido tánico/100 g peso fresco) máximos en la 1^{era} estación, mientras que el contenido de FL fue mayor en la 2^{da} estación (157, 8 mg (+) - equivalentes de catequina/100 g peso fresco). Se encontraron interacciones significativas para el contenido de A entre los factores estudiados (**Tabla 5**), principalmente debido a incrementos diferenciales en los valores entre los factores principales y diferencias entre combinaciones. El contenido de A aumentó con el nivel de

fertilización en los frutos de plantas en alta intensidad de luz, mientras que en aquellos de media intensidad de luz la tendencia fue inversa en la 1^{era} estación de crecimiento, mientras que en la 2^{da} el contenido de A en los frutos bajo intensidad de luz media aumentó con el nivel de fertilización aunque sin diferencias tan marcadas entre sí. Una disminución en las A frente a una reducción de la intensidad de luz pudo observarse en frutos de *Ribes nigrum* (Šavikin *et al.*, 2009) y *Vitis vinifera* (Cortell y Kennedy, 2006). Davenport (1996) no ha encontrado ninguna correlación entre el nivel de fertilización y el contenido de antocianinas en *Vaccinium*, al igual que Alleyne y Clark (1997) en *Rubus*. En *Vitis vinifera* (Martin *et al.*, 2004) niveles crecientes de nitrógeno aumentaron los valores del contenido de antocianinas, con relación a los tratamientos sin nitrógeno. El contenido de A en el tratamiento con mayor intensidad de luz y sin fertilización en la 1^{era} estación (435 mg/100 g peso fresco de frutos) fue comparable con los obtenidos en años anteriores en una población natural de *B. microphylla* y está de acuerdo con el estado de madurez de los frutos (Arena y Curvetto, 28). A su vez, los contenidos de A en el tratamiento con mayor intensidad de luz y sin fertilización de la 1^{er} temporada fueron similares a aquellos valores citados para *Berberis microphylla* del sur de Chile (Ruiz *et al.*, 2010); sin embargo fueron superiores a aquellos determinados para otros berries como *Ribes nigrum* (350 mg/100 g peso fresco), *Rubus idaeus* (55-60 mg/100 g PF), *Fragaria ananassa* (40 mg/100 g peso fresco) (Lister *et al.*, 2002), y *Vaccinium* sp. (1,2 mg/100 g peso fresco) (Zheng y Wang, 2003). A su vez, los contenidos de flavonoides en el tratamiento con mayor intensidad de luz y sin fertilización fueron similares a aquellos valores citados para *Fragaria* sp. (30,0 y 123,2 mg de equivalentes de quercetina/100 g de peso fresco de frutas (Cheel *et al.*, 2007). Los contenidos fenólicos medidos en frutos maduros de *B. microphylla* en este estudio (26 a 41 mg/g peso seco) fueron comparables a los citados para *B. vulgaris* (Gundogdu, 2013), *Vaccinium myrtillus* (33 a 38 mg/g peso seco) (Kähkönen *et al.*, 2001) y *Ribes nigrum* (1000 mg/100 g peso fresco) (Deighton *et al.*, 2002), y superiores a los de otras bayas de color púrpura-rojizo, como *Ribes rubrum* (14 mg/g peso seco), *Fragaria ananassa* (16 a 24 mg/g peso seco) (Kähkönen *et al.*, 2001), *Rubus idaeus* (300 mg/100 g peso fresco) (Lister *et*

al., 2002), y otros frutos nativos de América del sur como *Fragaria* sp. (106 a 268 mg/100 g peso fresco) (Cheel *et al.*, 2007).

El DPPH y el PR variaron significativamente con la intensidad de luz (**Tabla 6**), siendo máximos los valores de estas variables en alta intensidad de luz. El DPPH varió entre 56,0 y 66,8 % para media y alta intensidad de luz respectivamente, mientras que el PR lo hizo entre 39,5 y 46,2% para media y alta intensidad de luz respectivamente. El DPPH y el PR variaron significativamente con el nivel de fertilización (**Tabla 6**). El DPPH varió entre 58,2 y 63,2% entre el nivel 0 y 1 de fertilización, mientras que el PR lo hizo entre 39,9 y 44,9% entre el nivel 0 y 1 de fertilización. El máximo DPPH se encontró a una concentración de 0,75 ml, mientras que para el PR fue a 5,0 ml. Se encontraron interacciones significativas para el DPPH y PR entre los factores estudiados (**Tabla 6**), principalmente debido a incrementos diferenciales en los valores entre los factores principales y diferencias entre combinaciones. El DPPH varió significativamente con la estación de crecimiento, aunque sin embargo, el PR presentó escasas diferencias entre ambas estaciones de crecimiento. El DPPH varió entre 66,50 y 55,50% para la 1^{era} y 2^{da} estación, respectivamente, mientras que el PR lo hizo entre 40,45 y 44,73% 1^{era} y 2^{da} estación, respectivamente. Aunque DPPH en los extractos de *B. microphylla* fue más efectivo a menor concentración (0,75 mg/ml) de lo que fue para el PR (5,00 mg/ml), se produjo una fuerte relación entre ambos métodos en relación con la actividad antioxidante, que se muestra por la correlación lineal significativa encontrada entre ambos parámetros ($r = 0,716$; $p < 0,001$). El efecto secuestrador de DPPH observado en *B. microphylla* fue comparable al reportado para los frutos de *B. vulgaris* (Motaleb *et al.*, 2005) y de la corteza de *B. koreana* (Qadir *et al.*, 2009). Los cambios observados en la composición cuali-cuantitativa de los hidratos de carbono, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos y en parte en la actividad antioxidante se pudieron relacionar con las condiciones ambientales de los tratamientos, de las estaciones de crecimiento y con los niveles de fertilización, indicando que las plantas presentan una capacidad de aclimatación en la composición de los frutos a dichas condiciones de crecimiento.

Bibliografía

- Abd El-Razek, E, Treutter, D, Saleh, MMS, El-Shammaa, M, Fouad Amara, A, Abdel-Hamid, N. 2011. Effect of nitrogen and potassium fertilization on productivity and fruit quality of 'crimson seedless' grape. *Agric Biol J North Amer* 2(2): 330-340.
- Albert, T, Karp, K, Starast, M, Moor, U, Paal, T. 2011. Effect of fertilization on the lowbush blueberry productivity and fruit composition in peat soil. *J Plant Nutr* 34 (10): 1489-1496.
- Alleyne, V, Clark, JR. 1997. Fruit composition of 'Arapho' blackberry following nitrogen fertilization. *HortSci* 32: 282-283.
- Arena, ME. 2016. Estudio de algunos fenómenos morfofisiológicos y cambios bioquímicos en *Berberis microphylla* G. Forst. (sinónimo *B. buxifolia* Lam.) asociados a la formación y maduración de frutos en Tierra del Fuego y su relación con la producción de metabolitos útiles. Tesis doctoral Universidad Nacional del Sur. 223 páginas.
- Arena, ME, Curvetto, N. 2008. *Berberis buxifolia* Fruiting: Kinetic Growth Behavior and Evolution of Chemical Properties During the Fruiting Period and Different Growing Seasons. *Scientia Horticulturae* 118, 2: 120-127.
- Arribillaga García, D. 2001. Domesticación del calafate (*Berberis buxifolia* Lam.) para fines agroindustriales. INIA, Chile. 137 p
- Cheel, J, Theoduloz, C, Rodríguez, JA, Caligari, PDS, Schmeda-Hirschmann, G. 2007. Free radical scavenging activity and phenolic content in achenes and thalamus from *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis*, *F. vesca* and *F. xananassa* cv. Chandler. *Food Chem* 102: 36-44.
- Chorti, E, Guidoni, S, Ferrandino, A, Novello, V. 2010. Effect of different cluster sunlight exposure levels on ripening and anthocyanin accumulation in nebbiolo grapes. *Am J Enol Viticult.* 61: 23-30.
- Conde, C, Silva, P, Fontes, N, Dias, ACP, Tavares, RM, Sousa, MJ, Agasse, A, Delrot, S, Gerós, H. 2007. Biochemical Changes throughout Grape Berry development and Fruit and Wine Quality. *Food* 1 (1): 1-22.
- Cortell, JM, Kennedy, JA. 2006. Effect of shading on accumulation of flavonoid compounds in (*Vitis vinifera* L.) pinot noir fruit and extraction in a model system. *J Agric Food Chem* 54 (22): 8510-20.
- Davenport, JR. 1996. The effect of nitrogen fertilizer rates and timing on cranberry yield and fruit quality. *J Amer Soc Hort Sci* 12(6):1089–1094.
- DeBolt, S, Ristic, R, Iland, PG, Ford, ChM. 2008. Altered light interception reduces grape berry weight and modulates organic acid biosynthesis during development. *HortSci* 43(3): 957–961.
- Deighton, N, Stewart, D, Davies, HV, Gardner, PT, Duthie, GG, Mullen, W, Crozier, A. 2002. Soft fruit as sources of dietary antioxidants. *Acta Hort* 585: 459-465.
- Dokoozlian, NK, Kliewer, WM. 1996. Influence of Light on Grape Berry Growth and Composition Varies during Fruit Development. *J Amer Soc Hort Sci* 121(5): 869–874.
- Etienne, A, Génard, M, Lobit, P, Mbeguié-A- Mbeguié, D, Bugaud, C. 2013. What controls fleshy fruit acidity? A review of malate and citrate accumulation in fruit cells. *J Exp Bot* 64 (4): 1451-1469.
- Ferreyra, RM, Viña, SZ, Mugridge, A, Chaves, AR. 2007. Growth and ripening effects on antioxidant capacity on strawberry cultivar Selva. *SciHortic* 112: 27-32.
- Gundogdu, M. 2013. Determination of antioxidant capacities and biochemical compounds of *Berberis vulgaris* L. fruits. *Adv Environ Biol* 7 (2): 344-348.
- He, F, Mu, L, Yan, G-L, Liang, N-N, Pan, Q-H, Wang, J, Reeves, MJ, Duan, C-Q. 2010. Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules* 15: 9057-9091. doi:10.3390/molecules15129057.
- Heinemann, K, Kitzberger, T, Veblen, T. 2000. Influences of gap microheterogeneity on the regeneration of *Nothofagus pumilio* in a xeric old-growth forest of Northwestern Patagonia, Argentina. *Can J For Res* 30: 25–31.

- Jeppsson, N. 2000. The effects of fertilizer rate on vegetative growth, yield and fruit quality, with special respect to pigments, in black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) cv. `Viking'. *Sci Hortic* 83: 127-137.
- Kähkönen, MP, Hopia, AI, Heinonen, M. 2001. Berry phenolics and their antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 49: 4076-4082.
- Lencinas, MV, Martínez Pastur, G, Moretto, A, Gallo, E, Busso, C. 2007. Differential biomass productivity of *Nothofagus pumilio* seedlings under light and soil moisture gradients. *Bosque* 28: 241-248.
- Lieffers, V, Messier, C, Gendron, F, Stadt, K, Comeau, P. 1999. Predicting and managing light in understory of boreal forests. *Can J For Res* 29: 796-811.
- Lister, CE, Wilson, PE, Sutton, KH, Morrison, SC. 2002. Understanding the health benefits of blackcurrants. *Acta Hort* 585: 443-449.
- Lobos, GA, Retamales, JB, Hancock, JF, Flore, JA, Romero-Bravo, S, del Pozo, A. 2013. Productivity and fruit quality of *Vaccinium corymbosum* cv. Elliott under photo-selective shading nets. *Sci Hortic* 153: 143-149.
- Marini, RP, Sowers, D, Marini, MC. 1991. Peach fruit quality is affected by shade 402 during final swell of fruit growth. *J Am Soc Hortic Sci* 116: 383-389.
- Martin, P, Relgado, R, González, MR, Gallegos, JI. 2004. Colour of 'Tem' affected by different nitrogen and potassium fertilization rates. *Proc. 1st International Symposium on Grapevine Growing, Commerce and Research, Lisbon, Portugal. Acta Hort*: 652: 153-159.
- Motalleb, G, Hanachi, P, Kua, SH, Fauziah, O, Asmah, R. 2005. Evaluation of phenolic content and total antioxidant activity in *Berberis vulgaris* fruit extract. *J Biol Sci* 5(5): 648-653.
- Qadir, SA, Kwon, MC, Han, JG, Ha, JH, Chung, HS, Ahn, J, Lee, HY. 2009. Effect of different extraction protocols on anticancer and antioxidant activities of *Berberis koreana* bark extracts. *J Biosci Bioeng* 107 (3): 331-338.
- Roussos, PA, Denaxa, N-K, Damvakaris, T. 2009. Strawberry fruit quality attributes after application of plant growth stimulating compounds. *Sci Hortic* 119: 138-146.
- Ruiz, A, Hermosin-Gutierrez, I, Mardones, C, Vergara, C, Hertlitz, E, Vega, M, Dorau, C, Winterhalter, P, von Baer, D. 2010. Polyphenols and antioxidant activity of calafate (*Berberis microphylla*) fruits and other native berries from southern Chile. *J Agric Food Chem* 58(10): 6081-6089.
- Rylski, I, Spigelman, M. 1986a. Effect of shading on plant development, yield and fruit quality of sweet pepper grown under conditions of high temperature and radiation. *Sci Hortic* 29: 31-35.
- Rylski, I, Spigelman, M. 1986b. Use of shading to control the time of harvest of red ripe pepper fruits during the winter season in a high-radiation desert climate. *Sci Hortic* 29: 37-45.
- Šavikin, K, Zdumić, G, Janković, T, Tasić, S, Menković, N, Stević, T, Đorđević, B. Phenolic content and radical scavenging capacity of berries and related jams from certificated area in Serbia. *Plant Food Hum Nutr* 64: 212-217, 2009.
- Toldam-Andersen, T, Hansen, P. 1997. Growth and development in black currants (*Ribes nigrum*). III. Seasonal changes in sugars, organic acids, chlorophyll and anthocyanins and their possible metabolic background. *J Hortic Sci* 72 (1), 155-169.
- Vance, AJ, Reeve, AL, Skinkis, PA. 2013. The role of canopy management in vine balance. Oregon State University. EM 9071. 12 pág.
- Vicente, AR, Manganaris, GA, Sozzi, GO, Crisosto, CH. 2009. Nutritional Quality of Fruits and Vegetables. In: *Postharvest Handling: A Systems Approach, Second Edition*. ISBN: 978-0-12-374112-7. Pp 57-106. Edited by Wojciech J. Florkowski, Robert L. Shewfelt, Bernhard Brueckner and Stanley E. Prussia.
- Wang, SY, Lin, H-S. 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of Blackberry, Raspberry and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *J Agric Food Chem* 48 (2): 140-146.

- World, A-B, Opstad, N. 2007. Fruit quality in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch. cv. Korona) at three times during the season and with two fertilizer strategies. *J Appl Bot Food Qual*: 81: 36-40.
- Wright, STC. 1956. Studies of fruit development in relation to plant hormones III. Auxins in relation to fruit morphogenesis and fruit drop in black currant (*Ribes nigrum*). *J Hort Sc* 31:196-211.
- Zheng, W, Wang, SY. 2003. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *J Agric Food Chem* 51: 502-509.
- Zhi, Wu Sheng, Li, Yu Fen, Zi, Sheng Wu, Xue, Xue Bao. 2004. Sugar transport, metabolism, accumulation and their regulation in fruits. *J Plant Physiol Molec Biol* 30 (1): 1-10.