

## Expresión de genes de biosíntesis y degradación de glucosinolatos indólicos en brócoli durante el ritmo circadiano y senescencia poscosecha

Casajús V. <sup>(1)</sup>, Gómez Lobato M.E. <sup>(1)</sup>, Civello P.M. <sup>(1,2)</sup>, Martínez G.A. <sup>(2,3)</sup>

(1) Instituto de Fisiología Vegetal CCT CONICET La Plata, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

(2) Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.

(3) Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIB-INTECH, UNSAM), Chascomús, Argentina

Dirección de e-mail: [vickycasajus@gmail.com](mailto:vickycasajus@gmail.com)

### Resumen

El consumo de brócoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*) aporta una gran cantidad de compuestos con potencial nutracéutico a la dieta humana. El brócoli posee un elevado contenido de glucosinolatos, compuestos del metabolismo secundario, ricos en nitrógeno y azufre, y con actividad anticarcinogénica. Del brócoli se consume la inflorescencia, la cual se cosecha en un estado de desarrollo incompleto. La cosecha provoca un importante estrés y, como consecuencia, se produce una senescencia acelerada. El objetivo del presente trabajo es evaluar la expresión relativa de genes vinculados a la biosíntesis y degradación de glucosinolatos indólicos a distintas horas del día y durante la senescencia poscosecha de brócoli. Se cosecharon cabezas de brócoli en distintos momentos del día (8 h, 12 h y 18 h) y para el ensayo de senescencia las muestras cosechadas se almacenaron durante 7 días a 20 °C en oscuridad. Se realizaron medidas de color y contenido de clorofilas total a las distintas horas de cosecha y durante el almacenamiento. A las distintas horas del día inicial, el contenido de clorofilas y el color superficial se mantuvieron constantes. Se observó una disminución en el contenido de clorofilas y en el color superficial durante el almacenamiento poscosecha. Se evaluó la expresión relativa mediante qRT-PCR de los genes de biosíntesis de glucosinolatos indólicos (*BoCYP83B1*, *BoST5a*, *BoCYP81F4*) y de degradación (*BoMyr*). Se observó que la expresión de *BoMyr* se incrementó a las 18 horas poscosecha. Mientras que la expresión de *BoCYP83B1* aumentó a las 12 horas. Diferentemente, la expresión relativa de *BoST5a* no varió durante el día y *BoCYP81F4* disminuyó su expresión relativa hacia las 18 horas. Cuando se analizó la expresión relativa de estos genes en las muestras que fueron cosechadas a las 8 h a lo largo del almacenamiento poscosecha, se encontró que *BoMyr* y *BoCYP81F4* disminuyeron su expresión significativamente en el día 5 y 7 respecto al día 0. Mientras que la expresión relativa de *BoST5a* disminuyó de forma continua a lo largo de los días. Finalmente, la expresión relativa de *BoCYP83B1* disminuye entre el día 5 y el día 7. Se observó que las muestras cosechadas a las 18 h muestran un retardo en la senescencia, con menor disminución en el color superficial y el contenido de clorofilas total respecto a las muestras cosechadas en otras horas del día. La expresión relativa de los genes estudiados, involucrados en la biosíntesis



de glucosinolatos indólicos se ven afectados tanto por variaciones en un mismo día como por el almacenamiento poscosecha.

**Palabras clave:** brócoli, glucosinolatos indólicos, poscosecha

## Introducción

El brócoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*) es una hortaliza del grupo de las crucíferas ampliamente cultivado y consumido a nivel mundial. Además de ser un vegetal climatérico y percedero, el brócoli se cosecha en un estado de desarrollo incompleto lo cual provoca un gran estrés y una senescencia acelerada del mismo (Downs et al., 1997); por lo tanto, el uso de técnicas que extiendan la vida útil del brócoli, su comercialización y permitan mantener o aumentar las cualidades nutricionales del mismo son de gran necesidad.

El consumo de brócoli aporta una gran cantidad de metabolitos con propiedades nutricionales tales como antioxidantes, compuestos fenólicos, vitamina C, carotenoides, ácido fólico y fibra soluble, entre otros. Sumado a esto, al igual que otros vegetales del grupo de las coles, el brócoli contiene un alto contenido de glucosinolatos (GLS):  $\beta$ -tioglicósidos, metabolitos secundarios que derivan de aminoácidos y se pueden clasificar en tres grupos de acuerdo al aminoácido precursor: alifáticos (derivados de alanina, leucina, isoleucina, valina o metionina), indólicos (derivados de triptófano) o aromáticos (derivados de fenilalanina o tirosina). Su biosíntesis se puede dividir en tres grandes etapas: descarboxilación oxidativa, elongación de cadenas laterales y por último, modificaciones secundarias. Los glucosinolatos se encuentran localizados en las vacuolas, son químicamente estables, pero cuando se produce un daño tisular provocado por un estrés biótico o abiótico, estos se ponen en contacto con la enzima mirosinasa (la cual se encuentra almacenada en un compartimiento celular diferente). La enzima mirosinasa cataliza la hidrólisis del azúcar del glucosinolato dando como resultado un aglicón inestable que se transforma rápidamente en isotiocianatos, tiocianatos y/o nitrilos (Halkier y Gershenzon, 2006). Estos productos de hidrólisis están siendo ampliamente estudiados no solo por su acción biopesticida sino también por sus beneficios en la salud humana actuando como agentes de prevención en cáncer, especialmente de colon, vejiga y pulmón (Voorrips et al., 2000a; Voorrips et al., 2000b).

En los últimos años, se han utilizado diferentes tratamientos para extender la vida poscosecha del brócoli, incluyendo el uso de atmósferas controladas y modificadas (Jacobsson et al. 2004), tratamientos térmicos (Funamoato et al., 2002, Costa et al., 2005b), UV-C (Costa et al., 2006a; Costa et al., 2006b) y 1-MCP (Ku y Wills, 1999) entre otros, con el objetivo de retrasar la senescencia y mantener las calidades organolépticas y nutricionales de dicha inflorescencia. Sin embargo, muchas de las calidades organolépticas son afectadas por diversos factores precosecha tales como el clima, el suelo, etc., siendo uno de los factores potencialmente más importantes el momento del día en que se cosechan los vegetales. Como lo indica Hasperué et al., (2011), si se cosechan las cabezas de brócoli al final del día se ve retrasada la senescencia, posiblemente debido a una acumulación de almidón durante el ciclo



diurno. Se ha demostrado en plántulas de 15 y 21 días de *Arabidopsis thaliana* que el ritmo circadiano y la cantidad de luz acumulada influye sobre la síntesis y el contenido de glucosinolatos (Huseby et al., 2013). Asimismo, se ha visto que el contenido de glucosinolatos y los niveles de expresión de algunos de los genes de su biosíntesis, muestran cambios en ciclos de 24 h luz/oscuridad y se observaron fluctuaciones en los metabolitos, afectados por la temperatura en distintos cultivares de *Brassica oleracea* (Rosa et al., 1994, Schuster et al., 2006).

El objetivo del presente trabajo es evaluar la expresión relativa de genes vinculados a la biosíntesis y degradación de glucosinolatos indólicos durante la cosecha en distintos momentos del día y durante el almacenamiento poscosecha.

## **Materiales y Métodos**

### Material vegetal

Se utilizaron cabezas de brócoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*) obtenidas de un productor local en la zona del Gran La Plata, Buenos Aires, Argentina en el mes de Septiembre. Se realizaron 3 cosechas en un día a diferentes horas (8 h, 12 h y 18 h). Para cada uno de los tiempos se cosecharon 15 cabezas y se transportaron al laboratorio para ser procesadas inmediatamente después de la cosecha. Las cabezas fueron almacenadas en oscuridad a 20 °C durante 7 días. Se tomaron muestras periódicamente, las cuales se congelaron con nitrógeno líquido y se almacenaron a -20 °C.

### Medida del color superficial

El color superficial en las cabezas de brócoli fue evaluado midiendo los parámetros L\*, a\* y b\* usando un colorímetro (CR300, Minolta, Osaka, Japón). Se calculó el ángulo Hue usando las siguientes fórmulas:  $^{\circ}\text{HUE} = \tan^{-1}(b/a)$  cuando  $a > 0$  y  $b > 0$  o  $^{\circ}\text{HUE} = \tan^{-1}(b/a) + 180^{\circ}$  cuando  $a < 0$  y  $b > 0$ . Se midió color a 5 cabezas por condición realizando 5 mediciones por cabeza respetando los horarios de cosecha.

### Contenido de clorofilas

Las inflorescencias congeladas se molieron con nitrógeno líquido y del polvo resultante se pesaron 0,5 g, el cual se mezcló con 5 mL de acetona 80% (v/v). La mezcla se homogeneizó con vórtex y se centrifugó a 10000 g durante 10 min a 4 °C. El sobrenadante obtenido se midió por espectrometría a 647 y 665 nm (Inskeep et al., 1985).

Todas las medidas se realizaron por quintuplicado y los resultados obtenidos se expresaron como mg de clorofila total/ g de peso fresco.

### Extracción de ARN y análisis de la expresión génica por RT-qPCR

Se realizó una extracción de ARN total de inflorescencias de brócoli por el método del borato caliente (Wan y Wilkins, 1994). Aproximadamente 6 µg del ARN total obtenido



fue purificado usando ADNasa (Promega) y 2 µg del ARN purificado se utilizó como molde para la reacción de retrotranscripción utilizando MMLV retrotranscriptasa (siguiendo las indicaciones del fabricante), para la obtención del ADN complementario.

Se realizaron reacciones de RT-qPCR utilizando: SYBR Green I como método de detección, un equipo StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Applied biosystems) y el kit FastStart Universal SYBR Green Master (Roche). Se siguieron las condiciones propuestas por el fabricante del kit, mezclando Master Mix, cDNA molde y oligonucleótidos. El gen de actina (*BoAct*) de *Brassica oleracea* se utilizó como gen normalizador. Se diseñaron cebadores para tres genes de la biosíntesis de glucosinolatos indólicos: *BoCYP83B1*, *BoST5a* y *BoCYP81F4* y para un gen de degradación de los mismos: *BoMyr* (Tabla 1). Para el diseño de los oligonucleótidos se utilizó la base de datos <http://brassicadb.org/brad/>, la opción primer-BLAST de la base de datos NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) y el programa *Beacon designer v7.21*.

**Tabla 1.** Secuencia de los oligonucleótidos y número de acceso de los genes utilizados para el análisis de expresión relativa mediante RT-qPCR. También se indica el tamaño del amplicón en pares de bases esperado.

| Genes               | Secuencia nucleotídica          | pb  | Nº de acceso |
|---------------------|---------------------------------|-----|--------------|
| <i>BoCYP83B1Fw</i>  | 5' ACTATCGTGAGATGAGGAAG 3'      | 214 | GU584125     |
| <i>BoCYP83B1Rv</i>  | 5' TCGTTATACCGCTTACCAA 3'       |     |              |
| <i>BoST5a Fw</i>    | 5' TTGATCTCTGGTCCTTT 3'         | 151 | BoI039695    |
| <i>BoST5a Rv</i>    | 5' TGAAGTAGCTCTGAATGTTT 3'      |     |              |
| <i>BoCYP81F4 Fw</i> | 5' GAGTTTTGAGAAGAAAGTGAAAG 3'   | 120 | BoI032712    |
| <i>BoCYP81F4 Rv</i> | 5' AAAGAGAGCAAGTGATTAACC 3'     |     |              |
| <i>BoMyr Fw</i>     | 5' ACTGACCAAGCCAGCAGAGATG 3'    | 122 | EU004075     |
| <i>BoMyr Rv</i>     | 5' AGCCGACTACCCACAATTTCCC 3'    |     |              |
| <i>BoAct Fw</i>     | 5' CCAGAGGTCTTGTTCCAGCCATC 3'   | 137 | AF044573     |
| <i>BoAct Rv</i>     | 5' GTTCCACCACTGAGCACAATGTTAG 3' |     |              |

### Análisis Estadístico

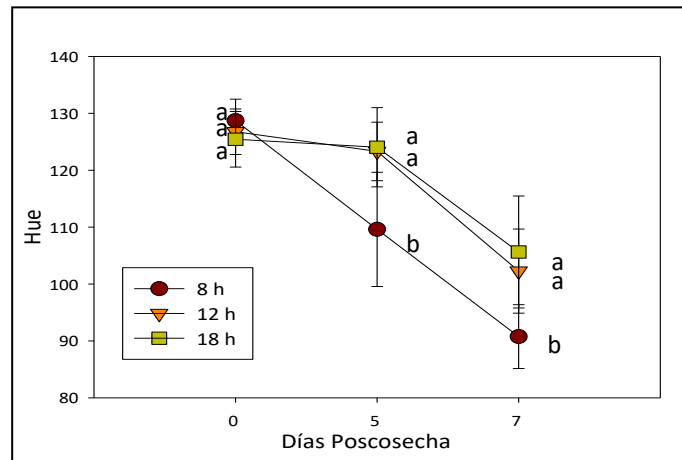
Los datos obtenidos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y se utilizó el test de Tukey para comparar las medias con un nivel de significancia  $p \leq 0,05$ .



## Resultados y Discusión

### *Color superficial y contenido de clorofilas*

El cambio de color superficial en brócoli es uno de los parámetros de calidad que afecta la elección de los consumidores. En este trabajo, se cosecharon cabezas de brócoli en diferentes momentos del día y se evaluó su vida poscosecha mediante la medida del color superficial. En el día inicial se observó, que las cabezas cosechadas a distintas horas presentaron un valor similar del ángulo Hue (Figura 1). A diferencia, en el día 5 y 7 del almacenamiento poscosecha, las cabezas que fueron cosechadas a las 18 h presentaron una menor disminución del ángulo Hue comparado con aquellas cosechadas a las 8 h. Estos datos concuerdan con los obtenidos por Hasperué et al., (2011).



**Figura 1.** Cambio del color superficial (Hue) en las muestras cosechadas a las 8, 12 y 18 h durante el almacenamiento poscosecha a 20 °C. Las diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en un mismo día.

Se analizó además el contenido de clorofilas de las cabezas durante el almacenamiento poscosecha (Tabla 2). Se observó un descenso de este contenido en concordancia con el avance de la senescencia. Al cabo de 7 días de almacenamiento, se detectó un menor descenso en las muestras cosechadas a las 18 h.

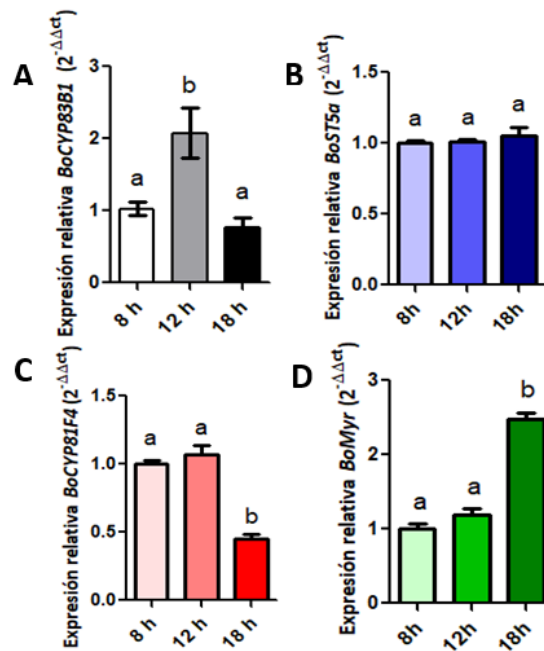


**Tabla 2.** Contenido de clorofila total (mg clorofila total/ g peso fresco) de las muestras cosechadas a las 8 h, 12 h y 18 h durante el almacenamiento poscosecha a 20 °C. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en un mismo día.

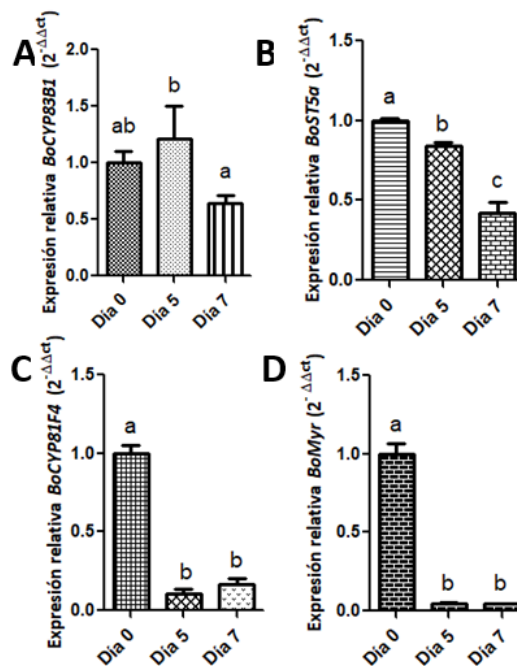
| Tiempo (días) | 8 h                        | 12 h                       | 18 h                       |
|---------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 0             | 0.057 ± 0.013 <sup>a</sup> | 0.043 ± 0.004 <sup>a</sup> | 0.044 ± 0.006 <sup>a</sup> |
| 5             | 0.032 ± 0.005 <sup>a</sup> | 0.018 ± 0.001 <sup>b</sup> | 0.023 ± 0.002 <sup>b</sup> |
| 7             | 0.007 ± 0.002 <sup>a</sup> | 0.008 ± 0.002 <sup>a</sup> | 0.012 ± 0.001 <sup>b</sup> |

Como se mencionó previamente, los dos grupos más importantes de glucosinolatos son los alifáticos y los indólicos, los cuales derivan de los aminoácidos metionina y triptófano, respectivamente (Burow et al. 2010; Halkier and Gershenzon 2006). Estas rutas de biosíntesis involucran una variedad de enzimas y genes para la formación de las diversas estructuras de los glucosinolatos.

En este trabajo, se evaluó la expresión relativa de tres genes de biosíntesis de glucosinolatos indólicos: *CYP83B1*, *ST5a*, *CYP81F4*, y un gen de degradación de los mismos: *Myr*. El gen *CYP83B1* codifica una enzima que cataliza el segundo paso de la primera etapa en la biosíntesis de glucosinolatos indólicos convirtiendo el indol-3-acetaldoxima en el correspondiente nitrocompuesto (Barlier et al., 2000). Se detectó que la expresión de este gen aumentó en las muestras cosechadas a las 12 h respecto de las muestras de las 8 h (Figura 2a). El gen *ST5a* codifica para una enzima sulfotransferasa con más afinidad por sustratos desulfoglucosinolatos derivados de triptofano y fenilalanina (Piotrowski et al., 2004). En la figura 2b se observa que la expresión de *ST5a* no varía durante el día. El gen *CYP81F4* está involucrado en la formación de un grupo metoxi en el anillo indólico para obtener 1-metoxindol-3-il-metil glucosinolato, en las últimas etapas de la biosíntesis que determinan la estructura final del glucosinolato. Se observó que la expresión relativa de este gen disminuye hacia las 18 h (Figura 2c). Por último el gen *BoMyr* codifica para la enzima mirosinasa responsable de la hidrólisis de los glucosinolatos, dando los productos de interés y este gen aumenta su expresión a las 18 h (Figura 2d).



**Figura 2.** Expresión relativa de *BoCYP83B1* (2a), *BoST5a* (2b), *BoCYP81F4* (2c) y *BoMyr* (2d) en los distintos momentos de cosecha. Las diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas para un mismo gen ( $p < 0.05$ ).



**Figura 3.** Expresión relativa de *BoCYP83B1* (2a), *BoST5a* (2b), *BoCYP81F4* (2c) y *BoMyr* (2d) durante el almacenamiento poscosecha. Las diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas para un mismo gen ( $p < 0.05$ ).

Al evaluarse la expresión de estos mismos genes a lo largo del almacenamiento poscosecha de las muestras cosechadas a las 8 h, se encontró que el gen *BoCYP83B1* disminuye su expresión relativa en el día 7 de poscosecha (Figura 3a). Los genes *BoCYP81F4* y *BoMyr* (Figura 3c y Figura 3d) disminuyeron su expresión



significativamente en el día 5 y 7 respecto al día inicial. Finalmente, para el gen *BoST5a* la expresión relativa disminuyó a lo largo del almacenamiento aunque de manera más gradual que los genes *BoCYP81F4* y *BoMyr* (Figura 3b).

## Conclusiones

Se observó que las muestras cosechadas a las 18 h muestran un retraso de la senescencia, con una menor disminución en el color superficial y el contenido de clorofilas total respecto a las muestras cosechadas en otras horas del día. También se observó que la expresión relativa de los genes estudiados, involucrados en la biosíntesis y degradación de glucosinolatos indólicos, se ve afectada tanto por los distintos momentos de la cosecha en un día como durante la senescencia poscosecha.

## Referencias

- BARLIER I, KOWALCZYK M, MARCHANT A, LJUNG K, BHALERAO R, BENNEETT M, BELLINI C. (2000). The SUR2 gene of *Arabidopsis thaliana* encodes the cytochrome P450 CYP83B1, a modulator of auxin homeostasis, en: *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(26):14819-14824.
- BUROW M, HALKIER BA, KLIEBENSTEIN DJ. (2010). Regulatory networks of glucosinolates shape *Arabidopsis thaliana* fitness, en: *Current Opinion Plant Biology*, 13:348–353.
- CHENG F, LIU S, WU J, FANG L, SUN S, LIU B, LI P, HUA W, WANG X. (2011). BMC Plant Biology 11:136. Brassica database. Disponible en: <<https://brassicadb.org/brad/>>.
- COSTA ML, CIVELLO PM, CHAVES AR, MARTÍNEZ GA (2005b). Effect of hot air treatments on senescence and quality parameters of harvested broccoli (*Brassica oleracea L var Italica*) heads, en: *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(7):1154-1160.
- COSTA ML, CIVELLO PM, CHAVES AR, MARTÍNEZ GA. (2006a). Hot air treatment decreases chlorophyll catabolism during postharvest senescence of broccoli (*Brassica oleracea L. var. italica*) heads, en: *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(7):1125-1131.
- COSTA ML, VICENTE AR, CIVELLO PM, CHAVEZ AR, MARTÍNEZ GA (2006b). UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets, en: *Postharvest Biology and Technology*, 39(2):204-210.
- DOWN C, SOMERFIELD S, DAVEY M. (1997). Cytokinin treatment delays senescence but not sucrose loss in harvested broccoli, en: *Postharvest Biology and Technology*, 11(2):93-100.
- FUNAMOTO Y, YAMAUCI N, SHIGENAGA T, SHIGYO M. (2002). Effects of heat treatment on chlorophyll degrading enzymes in stored broccoli (*Brassica oleracea L.*), en: *Postharvest Biology and Technology*, 24(2):163-170.





HALKIER B, GERSHENZON J. (2006). Biology and biochemistry of glucosinolates, en: *Annual Review of Plant Biology*, 57:303-333.

HASPERUÉ J, CHAVES A, MARTÍNEZ GA. (2011). End of day harvest delays postharvest senescence of broccoli florets, en: *Postharvest biology and technology*, 59(1): 64-70.

HUSEBY S, KOPRIVOVA A, LEE BR, SAHA S, MITHEN R, WOLD AB, KOPRIVA S. (2013). Diurnal and light regulation of sulphur assimilation and glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis*, en: *Journal of experimental botany*, 64(4): 1039-1048.

INSKEEP W y BLOOM P. (1985). Extinction coefficients of chlorophyll a and b in N,N-dimethylformamide and 80% acetone, en: *Plant Physiology*, 77:483-485.

JACOBSSON A, NIELSEN T, SJOHOLM I. (2004). Influence of temperature, modified atmosphere packaging, and heat treatment on aroma compounds in broccoli, en: *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(6):1607-1614.

KU VVV y WILLS RBH (1999). Effect of 1-methylcyclopropene on the storage life of broccoli, en: *Postharvest Biology and Technology*, 17(2): 127-132.

PIOTROWSKI M, SCHEMENEWITZ A, LOPUKHINA A, MULLER A, JANOWITZ T, WEILER EW, OECKING C. (2004). Desulfoglucosinolate sulfotransferases from *Arabidopsis thaliana* catalyze the final step in the biosynthesis of the glucosinolate core structure, en: *Journal Biology Chemistry*, 279: 50717-50725.

ROSA EAS, HEANEY RK, REGO FC, FENWICK GR. (1994). The variation of glucosinolate concentration during a single day in young plants of *Brassica oleracea* var. *Acephala* and *Capitata*, en: *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 66:457-463.

SCHUSTER J, KNILL T, REICHELT M, GERSHENZON J, BINDER S. (2006). BRANCHED-CHAIN AMINOTRANSFERASE4 is part of the chain elongation pathway in the biosynthesis of methionine-derived glucosinolates in *Arabidopsis*, en: *The Plant Cell*, 18:2664-2679.

VOORRIPS LE, GOLDBOHM RA, VAN POPPEL G, STURMANS F, HERMUS RJJ, VAN DEN BRANDT PA. (2000a). Vegetable and fruit consumption and risks of colon and rectal cancer in a prospective cohort study; the Netherlands cohort study on diet and cancer, en: *American Journal of Epidemiology*, 152:1081-1092.

VOORRIPS LE, GOLDBOHM RA, VERHOEVEN DTH, VAN POPPEL G, STURMANS F, HERMUS RJJ, VAN DEN BRANDT PA.(2000b). Vegetable and fruit consumption and lung cancer risk in the Netherlands cohort study on diet and cancer, en: *Cancer Cause Control*, 11:101-115.

WAN C y WILKINS T (1994). A modified hot borate method significantly enhances the yield of high-quality RNA from cotton (*Gossypium hirsutum* L.), en: *Analytical Biochemistry*, 223: 7-12.



## Comportamiento poscosecha de frutos de berenjena violeta proveniente de plantas injertadas

Darré M.<sup>(1,3)</sup>, Valerga L.<sup>(1)</sup>, Ortiz Araque L.<sup>(1)</sup>, Zaro M. J.<sup>(1,2)</sup>, Vicente A. R.<sup>(1,3)</sup>, Lemoine M. L.<sup>(1,3)</sup>, Concellón A.<sup>(1)</sup>

(1) Grupo de Investigación en Tecnología Poscosecha (GITeP). Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos, (CIDCA, CONICET- CIC-UNLP). La Plata, Buenos Aires, Argentina.

(2) Curso Bioquímica y Fitoquímica, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). La Plata, Buenos Aires, Argentina.

(3) Laboratorio de Investigación en Productos Agroindustriales (LIPA). Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

Dirección de e-mail: magalidarre\_87@hotmail.com

### Resumen

El uso de plantas injertadas está ampliamente difundido en fruticultura. Sin embargo, en horticultura es mucho más reciente, debido a que generalmente son cultivos anuales. En este sentido, se están empleando portainjertos en especies como berenjena, tomate y pimiento, permitiendo esta técnica mejorar el rendimiento de la planta (mayor número y tamaño de los frutos), aumentar la precocidad, reducir la susceptibilidad a enfermedades principalmente de suelo y aumentar el vigor de la planta, pero todavía no se ha estudiado si el uso de portainjertos puede afectar la calidad poscosecha de los frutos de berenjenas violetas. En el presente trabajo se evaluó el efecto de dos portainjertos sobre el comportamiento poscosecha de berenjena violeta (*Solanum melongena* L.) almacenadas a 10 °C. Para ello se cosecharon frutos de tamaño comercial (0,17 m de longitud) de plantas de berenjena cv Monarca injertadas “a bisel” sobre portainjertos *Maxifort* y *Java* y cultivadas sobre pie franco (control). Todos los frutos fueron transportados inmediatamente al laboratorio, lavados, sanitizados, secados, envasados y almacenados a 10 °C (temperatura recomendada) durante 0, 7, 14, 21 y 28 días. Para cada período de almacenamiento se determinó: pérdida de peso, firmeza (texturómetro) y color de pulpa (colorímetro). Durante el almacenamiento a 10 °C tanto los frutos control como provenientes de plantas injertadas sobre portainjertos *Maxifort* y *Java* no presentaron escaldaduras ni pérdida de brillo, ni oscurecimiento de pulpa (indicado por los parámetros de color L\* y Hue), hasta el día 28 (final del almacenamiento). Sin embargo, los frutos provenientes de plantas injertadas mostraron algunos signos de deshidratación más notorios que los frutos controles. En particular sólo los frutos provenientes de plantas injertadas con *Maxifort* tuvieron una mayor pérdida de peso y menor firmeza hacia el final del almacenamiento. Los resultados mostraron que los frutos de berenjena violeta cv Monarca cosechados de plantas injertadas sobre el pie *Java* y almacenados a la temperatura recomendada (10 °C) no presentaron grandes diferencias respecto de los frutos control, mientras que aquellos frutos de plantas injertadas sobre *Maxifort* vieron afectada levemente su calidad en el almacenamiento.



**Palabras claves:** portainjerto, *Java*, *Maxifort*, almacenamiento, deshidratación.

## Introducción

En fruticultura es común el empleo de portainjertos para modificar la resistencia a plagas y enfermedades y la adaptabilidad a condiciones edáficas y climáticas. En horticultura es mucho más reciente, debido a que generalmente son cultivos anuales por lo que la duración de las plantas y con ello el tiempo necesario para amortizar su costo son mucho más limitados. En muchos casos, los patógenos de suelo infectan las plantas reduciendo su productividad, lo cual requiere un mayor empleo de agroquímicos y desinfectantes, tales como el bromuro de metilo de gran toxicidad. Sin embargo, una técnica alternativa para reemplazar el uso de estos productos, ser más sustentable y amigable con el medio ambiente, son los portainjertos capaces de aportar resistencia a patógenos como los géneros *Fusarium* sp, *Verticillum* sp, *Meloydogine* sp. En este sentido, se están empleando portainjertos en especies de la familia de las Solanáceas (berenjena, tomate, pimiento) y Cucurbitáceas (sandias y melones), permitiendo esta técnica mejorar el rendimiento de la planta (mayor número y tamaño de los frutos), y productividad de las plantas debido a una mejor condición de la planta y menor infección de patógenos. La berenjena (*Solanum melongena* L.) es una de las solanáceas que más se cultiva en el cinturón hortícola de La Plata luego del tomate y pimiento. En los últimos años su producción se ha visto beneficiada con el uso de estos portainjertos. Hay estudios que ensayan compatibilidad entre pie (portainjerto) y variedad (planta aérea) y hallaron que se pueden usar pies de tomate, de otras variedades de berenjenas e incluso Solanáceas silvestres que pertenezca a la misma familia. Así, Gisbert et al., (2011) estudiaron la compatibilidad de diferentes híbridos interespecíficos de berenjena y observaron su compatibilidad, rendimiento y calidad, concluyendo que el uso de estos híbridos aumentó el vigor y la precocidad en plantas de berenjena. Por otro lado, también se ha estudiado el efecto de estrés salino e hídrico sobre las plantas injertadas (Wei et al., 2009, Lopez- Marin et al., 2017). Sin embargo, son muy pocos los trabajos que se centran en el fruto y particularmente en su calidad y comportamiento durante un almacenamiento poscosecha, lo que determinará si su vida útil se verá beneficiada o no. Por ello el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del empleo de dos portainjertos sobre la calidad poscosecha de berenjena violeta (*Solanum melongena* L.) en el almacenamiento refrigerado a 10 °C.

## Materiales y Métodos

### *Material vegetal*

Frutos de berenjenas cv. Monarca fueron producidos en invernaderos de la ciudad de La Plata (Buenos Aires, Argentina) empleando dos tipos de cultivos: plantas injertadas “a bisel” con portainjerto de la variedad Java (Taki) y Maxifort (Syngenta) (*injertados*), y plantas no injertadas que se emplearon como control (*control*). Se seleccionaron y cosecharon 100 frutos de tamaño comercial (0,17 m de longitud) de cada cultivar que fueron transportados inmediatamente al laboratorio. Se descartaron aquellos que presentaron defectos y los remanentes fueron lavados, sanitizados, secados, y



envasados en bandejas plásticas recubiertas con film de PVC perforado. Las mismas fueron almacenadas a 10 °C (temperatura recomendada) durante 0, 7, 14, 21 y 28 días.

### *Pérdida de peso*

Se pesaron, en balanza digital (Marca: KERN 572), 8 bandejas con 2 frutos cada una al inicio y al final de cada período del almacenamiento. Los resultados fueron calculados como porcentaje de pérdida de peso.

$$\text{Pérdida de peso (\%)} = (100 \times (P_i - P_f)) / P_i$$

Donde  $P_i$  y  $P_f$  son peso inicial y peso final de los frutos.

### *Color de pulpa*

Se cortaron 3 rodajas de la zona ecuatorial del fruto y se midió el color en la pulpa, empleando un colorímetro (Minolta, Modelo CR-400, Osaka, Japón) obteniendo los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y el ángulo de tono se calculó como:  $\text{Hue} = 180 - \text{tg}^{-1} b^*/a^*$ . Las determinaciones se realizaron por triplicado en 16 frutos para cada tipo de planta y tiempo de almacenamiento.

### *Firmeza*

Se analizó empleando un texturómetro (TextureAnalyzer -TA.XT2) equipado con una sonda plana de 3 mm de diámetro. Se realizó un ensayo de penetración a 8 mm de profundidad y velocidad de 1 mm/s sobre la zona ecuatorial del fruto. Se calculó la pendiente inicial de la curva y los resultados se expresaron como firmeza en N/s. Se emplearon 16 frutos y las medidas se realizaron por triplicado para cada tipo de planta y tiempo de almacenamiento.

### *Análisis estadístico*

Se definió un diseño factorial y los resultados fueron analizados mediante ANOVA. Las medias fueron comparadas mediante el test LSD de Fisher con  $P < 0,05$  empleando el software INFOSTAT.

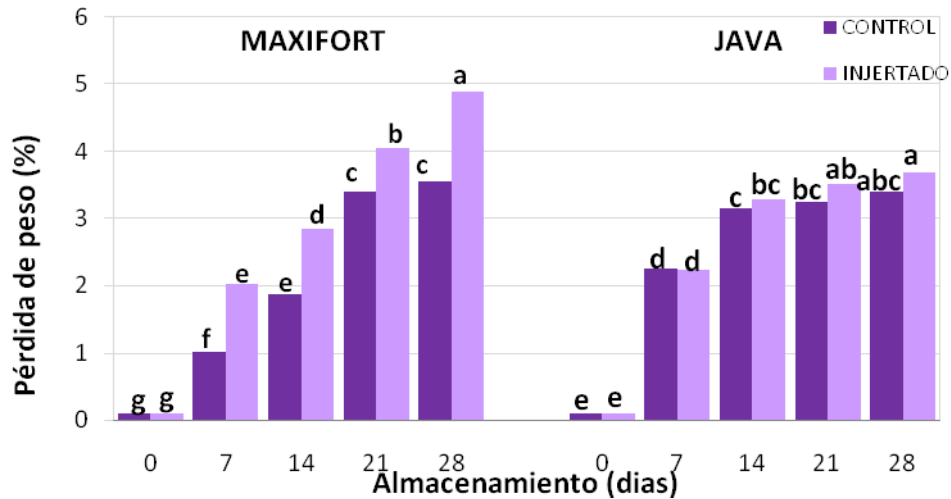
## **Resultados y Discusión**

### *Pérdida de peso*

La pérdida de peso se incrementó con el período de almacenamiento en los frutos control y provenientes de ambos portainjertos (Figura 1). Los frutos provenientes del portainjerto Maxifort presentaron una pérdida de peso superior a su control (4-5% a los 21-28 d respecto de 3,5% para el control), aunque su calidad no se vio afectada dado que permanecieron perfectamente consumibles. Mientras que, en las berenjenas procedentes del portainjerto Java se observó menor pérdida de peso que aquellas provenientes de Maxifort y no mostraron diferencias con su control. Esto es coincidente con lo observado por Concellón et al., (2012) que a pesar de no haber



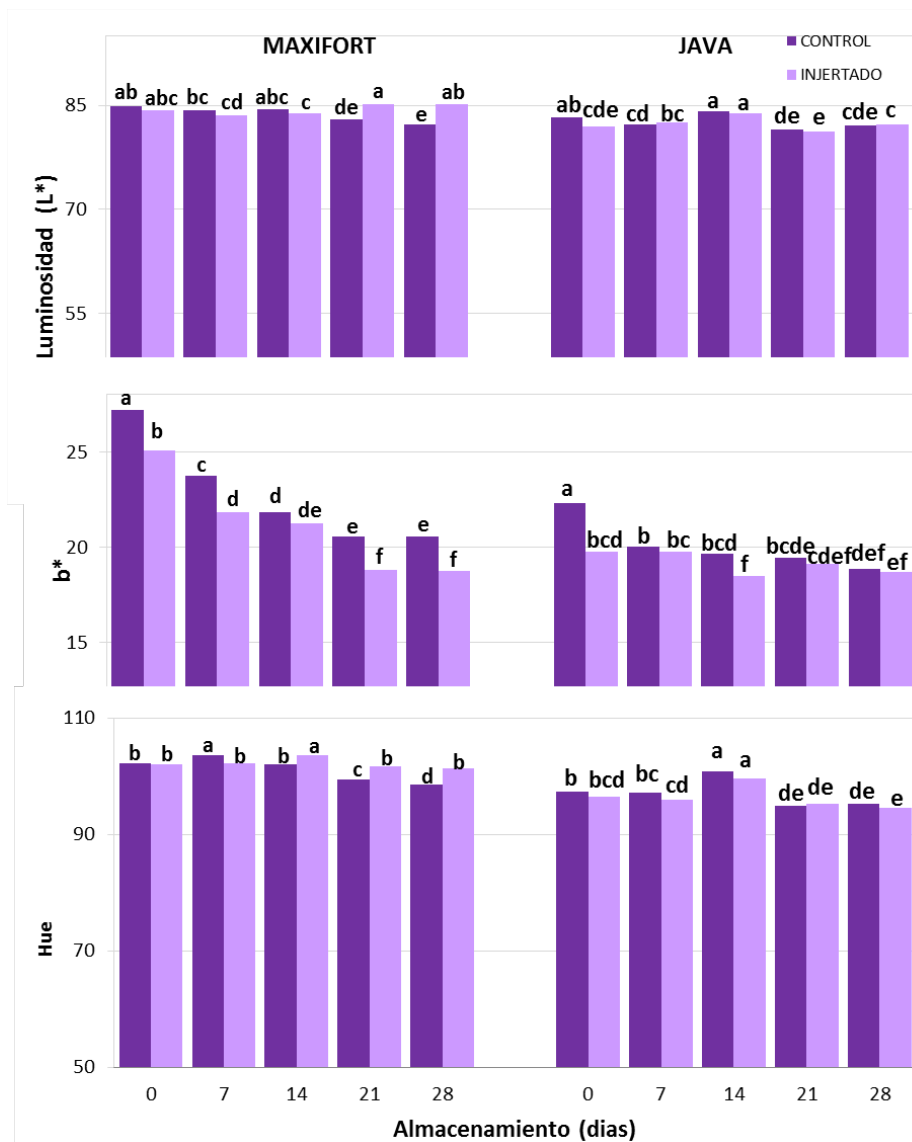
trabajado con frutos procedentes de plantas injertadas percibieron un incremento en la pérdida de peso a lo largo del almacenamiento a 10 °C en frutos de berenjena violeta cv Lucía.



**Figura 1:** Pérdida de peso de frutos de berenjena provenientes de plantas control e injertadas almacenadas a 10 °C durante 0, 7, 14, 21 y 28 días. Para cada portainjerto, Maxifort y Java, las letras diferentes indican diferencia significativa según el test LSD de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

### Color de pulpa

Como puede observarse en la Figura 2, no hubo grandes variaciones en el color de la pulpa a lo largo del almacenamiento tanto en frutos de las combinaciones portainjerto-variedad “Maxifort-Monarca” y “Java-Monarca”, como en los frutos provenientes de plantas controles. Ello se debe a que el almacenamiento a 10 °C no produjo desarrollo de pardeamiento de la pulpa de ningún fruto. Así, los frutos provenientes de Maxifort mantuvieron su pulpa más clara en los días 21 y 28 del almacenamiento evidenciándose en los mayores valores de Hue y  $L^*$  y menores valores de  $b^*$ . Mientras que en las berenjenas provenientes de portainjerto Java, el color de la pulpa permaneció prácticamente constante hasta el último día del almacenamiento y casi sin diferencias con su control.



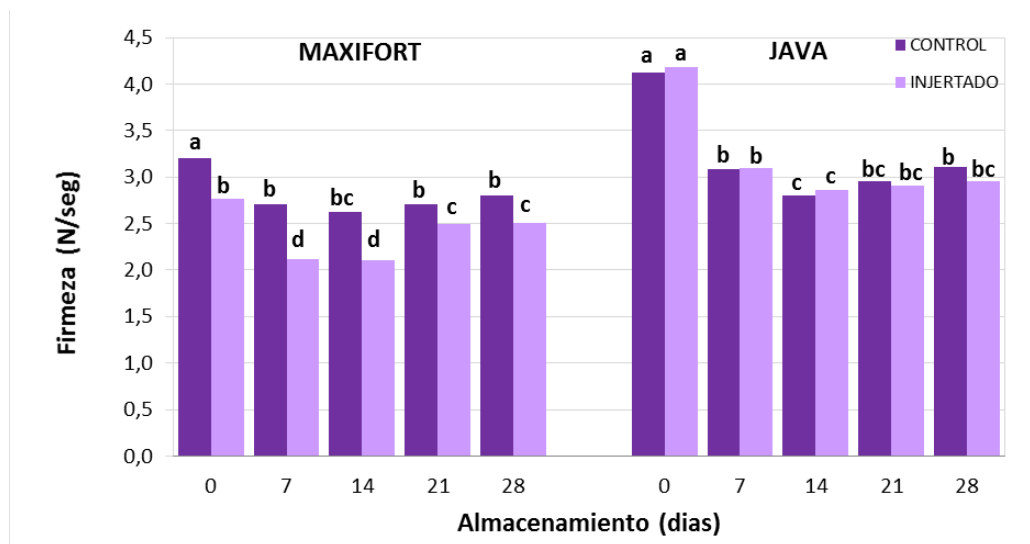
**Figura 2:** Color de pulpa de frutos de berenjena provenientes de plantas control e injertadas almacenadas a 10 °C durante 0, 7, 14, 21 y 28 días. Para cada portainjerto, Maxifort y Java, las letras diferentes indican diferencia significativa según el test LSD de Fisher con un nivel de significancia de P < 0,05.

### Firmeza

Las berenjenas provenientes del portainjerto Maxifort fueron notoriamente menos firme que su control durante todo el almacenamiento (Figura 3), lo que se corresponde con la mayor pérdida de peso que evidenciaron los frutos de este portainjerto (Figura 1), presentando de esta manera una apariencia de frutos menos firmes. Los frutos provenientes del portainjerto Java disminuyeron su firmeza al día 7 y luego la mantuvieron prácticamente constante durante el resto del almacenamiento y con valores similares a su control. Arvanitoyannis et al, (2005) observaron que berenjenas injertadas se ablandaban cuando eran almacenadas en aire más que su control y en atmósfera modificada pasiva (MAP) no mostraba diferencias con su control. Así



también, Jha y Matsuoka, (2002) mostraron que en berenjenas frescas almacenadas a 15 °C la firmeza fue disminuyendo a lo largo del almacenamiento y lo atribuyeron a una contracción del fruto y separación de la epidermis. A su vez encontraron que la berenjena era casi siempre menos firme a una mayor temperatura de almacenamiento.



**Figura 3:** Firmeza de frutos de berenjena provenientes de plantas control e injertadas almacenadas a 10 °C durante 0, 7, 14, 21 y 28 días. Para cada portainjerto, Maxifort y Java, las letras diferentes indican diferencia significativa según el test LSD de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

### Conclusiones

Las combinaciones portainjerto-variedad “Maxifort-Monarca” y “Java-Monarca” almacenadas a 10 °C presentaron frutos con ligeras diferencias. Las berenjenas cosechadas de las plantas injertadas sobre Maxifort presentaron pulpas más claras, mayor pérdida de peso y menor firmeza hacia el final del almacenamiento. Sin embargo las berenjenas provenientes de plantas injertadas sobre Java se mantuvieron casi sin cambios en la calidad por 28 días a 10 °C.

### Agradecimientos

Los autores agradecen al CONICET (PIP-0086 y PIP-0098) y la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 2012-2803) por el financiamiento recibido.

### Referencias

ARVANITOYANNIS I S, KHAH E, CHRISTAKOU EC, BLETSOS FA. (2005). Effect of grafting and modified atmosphere packaging on eggplant quality parameters during storage. *International J Food Science Technology*, 40: 311–322.

CONCELLÓN, A., ZARO, M. J., CHAVES, A. R., VICENTE, A. R. (2012). Changes in quality and phenolic antioxidants in dark purple American eggplant (*Solanum*



*melongena* L. cv. Lucía) as affected by storage at 0 °C and 10 °C. *Postharvest Biology and Technology*, 66: 35-41.

CONCELLÓN, A., AÑÓN, M. C., CHAVES, A. R. (2004). Characterization and changes in polyphenol oxidase from eggplant fruit (*Solanum melongena* L.) during storage at low temperature. *Food Chemistry*, 88(1): 17-24.

GISBERT, C., PROHENS, J., RAIGÓN, M. D., STOMMEL, J. R., NUEZ, F. (2011). Eggplant relatives as sources of variation for developing new rootstocks: Effects of grafting on eggplant yield and fruit apparent quality and composition. *Scientia Horticulturae*, 128(1): 14-22.

JHA, S. N., MATSUOKA, T. (2002). Surface stiffness and density of eggplant during storage. *Journal of Food Engineering*, 54(1): 23-26.

LÓPEZ-MARÍN, J., GÁLVEZ, A., DEL AMOR, F. M., ALBACETE, A., FERNÁNDEZ, J. A., EGEA-GILABERT, C., PÉREZ-ALFOCEA, F. (2017). Selecting vegetative/generative/dwarfing rootstocks for improving fruit yield and quality in water stressed sweet peppers. *Scientia Horticulturae*, 214: 9-17.

MONCADA, A., MICELI, A., VETRANO, F., MINEO, V., PLANETA, D., D'ANNA, F. (2013). Effect of grafting on yield and quality of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Scientia Horticulturae*, 149: 108-114.

WEI, G. P., YANG, L. F., ZHU, Y. L., CHEN, G. (2009). Changes in oxidative damage, antioxidant enzyme activities and polyamine contents in leaves of grafted and non-grafted eggplant seedlings under stress by excess of calcium nitrate. *Scientia Horticulturae*, 120(4): 443-451.