



*Universidad Nacional de La Plata*  
*Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales*

“EFECTO DE LA FERILIZACION CALCICA SOBRE LA  
CALIDAD Y VIDA POSCOSECHA DE ARÁNDANO”  
(*Vaccinium corymbosum.*)

Trabajo final de grado

Autor: Pablo Angeletti

Director: Dr. Ing. Agr. Ariel R Vicente

Lugar de Trabajo: Curso de Agroindustrias Facultad de Ciencias  
Agrarias y Forestales. UNLP. Calle 60 y 119 s/n° La Plata (1900)  
Argentina. Tel/Fax: (0221) 424-9287 / 425-4853.:

CIDCA. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de  
Alimentos. Facultad de Ciencias Exactas. UNLP-CONICET. Calle 47  
y 116 s/n° La Plata (1900) Argentina. Tel/Fax: (0221) 424-9287 / 425-  
4853. E-mail: pablo2080@hotmail.com

*Año 2009*

*Este trabajo final de grado de la Carrera de Ingeniería Agronómica de La Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de La Universidad Nacional de La Plata, fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), de La Facultad de Ciencias Exactas UNLP-CCT La Plata CONICET, bajo la dirección del Dr. Ing. Agr. Ariel R Vicente.*

*Año 2009*

*A mis padres y hermano que fueron quienes me apoyaron en los momentos difíciles de mi carrera, confiaron en mí, y me dieron aliento para seguir adelante.*

*A Verónica la compañera de vida que fue quien puso su oído en tiempos adversos y supo darme las palabras justas para no bajar los brazos nunca.*

*A mi abuelo que me enseñó valores fundamentales como el respeto, la honradez y el sacrificio, principios por los que le estaré tremendamente agradecido para siempre.*

*A Ariel Vicente, pilar fundamental en este trabajo. Me enseñó a trabajar con pasión en esta profesión, y me demostró que ser un excelente profesional no sólo es saber sobre cosas científicas sino un conjunto de cosas que incluyen al respeto, la generosidad, la entrega incondicional y sobre toda las cosas el valor de la palabra.*

*Y por supuesto gracias a Dios.*

*A todos ellos gracias.....*

## **Agradecimientos**

**En primer lugar al Ing. Agr. Juan Carlos Mildenberg con el que di mis primeros pasos en Arándanos, y fue quien me dio los frutos para hacer esta tesis.**

**A mi director de tesis Ariel Vicente que me dio todos sus conocimientos, confianza y tiempo.**

**A la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales por darme sus instalaciones para realizar los Análisis, en especial a la cátedra de Agroindustrias en el cual realicé varios análisis.**

**Al CIDCA y en especial a sus miembros por abrir sus puertas, contenerme y enseñarme no solo sobre Arándanos y poscosecha si no como se debe trabajar con compromiso y alegría.**

**A todos los que de alguna u otra manera hicieron posible esta tesis, a los cuales estoy verdaderamente agradecido y a los que recordare por siempre.**

## INDICE GENERAL

	<u>Pág</u>
<b><u>1.RESUMEN</u></b>	1
<b><u>2. INTRODUCCIÓN</u></b>	4
2.1. Ubicación sistemática y generalidades del cultivo de arándano.	5
2.2. Aspectos generales de composición, fisiología y tecnología poscosecha de arándano.	8
2.3. Producción nacional y mundial.	12
2.4. Efecto de la fertilización cálcica sobre el suelo y calidad de frutos.	17
<b><u>3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS</u></b>	19
<b><u>4. MATERIALES Y MÉTODOS</u></b>	21
4.1. Material vegetal y tratamientos.	22
4.2. Efecto de la fertilización cálcica y refrigeración sobre la calidad de arándano.	22
4.2.1. Pérdida de peso.	22
4.2.2. Color superficial y antocianinas.	22
4.2.3. Firmeza.	23
4.2.4. Acidez y pH.	23
4.2.5. Azúcares.	23
4.2.6. Ataque de patógenos.	23
4.2.7. Actividad respiratoria.	24
4.3. Efecto de la fertilización cálcica y del almacenamiento refrigerado sobre el metabolismo de pared celular de arándano.	24
4.3.1. Aislamiento de polisacáridos de pared celular.	24
4.3.2. Extracción y cuantificación de pectinas.	25
4.3.3. Extracción y cuantificación de hemicelulosa.	26
4.4. Análisis estadístico.	26
<b><u>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u></b>	27
5.1. Firmeza.	28
5.2. Pérdida de peso.	31
5.3. Color superficial, acidez, pH, azúcares, actividad respiratoria y ataque de patógenos.	34
5.4. Pectinas.	36
5.4.1. Pectinas lábilmemente unidas.	36
5.4.2. Pectinas fuertemente unidas.	38
5.5. Hemicelulosa.	40
<b><u>6. CONCLUSIONES</u></b>	41
<b><u>7. REFERENCIAS</u></b>	43

## INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

<u>I. TABLAS</u>	<u>Pág.</u>
<b><u>Tabla 1:</u></b> Nombre vulgar y científico de diferentes especies del género <i>Vaccinium</i> .	5
<b><u>Tabla 2:</u></b> Comparación de niveles foliares críticos y extracción de nutrientes por tonelada de producción para arándano alto “highbush”, frambuesa y frutilla (Vidal, 2003).	7
<b><u>Tabla 3:</u></b> Composición de frutos de arándano. (USDA National Nutrient Database for Standard Reference, 2009).	10
<b><u>Tabla 4:</u></b> Actividad respiratoria de frutos de arándano (Mitcham <i>et al.</i> , 2006).	11
<b><u>Tabla 5:</u></b> Evolución de la producción mundial en los principales países productores de arándanos (miles de toneladas) en los últimos 10 años (FAOSTAT, 2009).	13
<b><u>Tabla 6:</u></b> Contenido de calcio en lomos con y sin fertilización cálcica.	22
<b><u>Tabla 7:</u></b> Efecto de la fertilización cálcica sobre la luminosidad (L*), color superficial (a*, b*), acidez, pH, azúcares, ataque de patógenos, contenido de antocianinas y actividad respiratoria en frutos de arándano cv. O' Neal almacenados por 0 o 23 días a 2°C.	35
<b><u>Tabla 8:</u></b> Efecto de la fertilización cálcica sobre la luminosidad (L*), color superficial (a*, b*), acidez, pH, azúcares, ataque de patógenos, contenido de antocianinas y actividad respiratoria en frutos de arándano cv. Bluecrop almacenados por 0 o 23 días a 2°C.	36
<u>II. FIGURAS</u>	
<b><u>Figura 1:</u></b> Evolución de la producción de arándano en Argentina (SAGPYA, 2007c, 2008).	14
<b><u>Figura 2:</u></b> Evolución del valor de las exportaciones de arándano en Argentina (SAGPYA, 2007c, 2008).	14
<b><u>Figura 3:</u></b> Distribución de las exportaciones de arándano de la Argentina (SAGPYA, 2008).	15
<b><u>Figura 4:</u></b> Evolución de los precios medios de exportación de arándano en Argentina (SAGPYA, 2007c, 2008).	16

<b><u>II. FIGURAS (Cont.)</u></b>	<b><u>Pág.</u></b>
<b><u>Figura 5:</u></b> Esquema del proceso de obtención de paredes celulares (RIA) vegetales.	25
<b><u>Figura 6:</u></b> Esquema del proceso de fraccionamiento de paredes celulares (RIA) vegetales.	26
<b><u>Figura 7:</u></b> Efecto de la fertilización cálcica sobre la firmeza en frutos de arándano cv. O' Neal y Bluecrop almacenados por 0 y 23 días a 2°C. El asterisco muestra diferencias de los controles ( $P \leq 0,05$ ).	28
<b><u>Figura 8:</u></b> Efecto de la fertilización cálcica sobre la pérdida de peso en frutos de arándano cv. O' Neal y Bluecrop almacenados por 7, 14 y 21 días a 2°C. El asterisco muestra diferencias de los controles ( $P \leq 0,05$ ).	32
<b><u>Figura 9:</u></b> Efecto de la fertilización cálcica sobre el contenido de azúcares neutros (A) y pectinas (B) lábilmente unidas en frutos de arándano cv. O' Neal almacenados por 0 y 23 días a 2°C. El asterisco muestra diferencias de los controles ( $P \leq 0,05$ ).	37
<b><u>Figura 10:</u></b> Efecto de la fertilización cálcica sobre el contenido de azúcares neutros (A) y pectinas (B) lábilmente unidas en frutos de arándano cv. Bluecrop almacenados por 0 y 23 días a 2°C. El asterisco muestra diferencias de los controles ( $P \leq 0,05$ ).	38
<b><u>Figura 11:</u></b> Efecto de la fertilización cálcica sobre el contenido de azúcares neutros (A) y pectinas (B) fuertemente unidas en frutos de arándano cv. O'Neal almacenados por 0 y 23 días a 2°C. El asterisco muestra diferencias de los controles a un nivel de significancia de $P \leq 0,05$ .	39
<b><u>Figura 12:</u></b> Efecto de la fertilización cálcica sobre el contenido de azúcares neutros (A) y pectinas (B) fuertemente unidas en frutos de arándano cv. Bluecrop almacenados por 0 y 23 días a 2°C. El asterisco muestra diferencias de los controles ( $P \leq 0,05$ ).	39
<b><u>Figura 13:</u></b> Efecto de la fertilización cálcica sobre el contenido de hemicelulosa en frutos de arándano cv. O'Neal (A) y Bluecrop (B) almacenados por 0 y 23 días a 2°C. El asterisco muestra diferencias de los controles ( $P \leq 0,05$ ).	40

# 1. Resumen



En este trabajo se evaluó el efecto de la fertilización con calcio, aplicado en precosecha, sobre la calidad, la vida poscosecha y el metabolismo de la pared celular de arándano azul (*Vaccinium corymbosum*). Los frutos utilizados fueron de las variedades O'Neal y Bluecrop, producidos en una unidad de producción de 5 has, ubicada en la localidad de San Pedro, Provincia de Bs. As. Las plantas se fertilizaron finalizada la cosecha con 600 kg ha<sup>-1</sup> de CaSO<sub>4</sub> aplicado sobre el lomo. Se dejaron lomos sin fertilizar de cada variedad manejados del mismo modo que fueron utilizados como control. Los frutos se cosecharon en la temporada siguiente y se llevaron al laboratorio donde se colocaron en bandejas plásticas que se almacenaron a 2°C por 23 días. Durante el almacenamiento se analizó la pérdida de peso, la luminosidad, el color superficial, la firmeza, el ataque de patógenos, el contenido de antocianinas, la acidez, el pH y el contenido de azúcares totales. Los frutos fertilizados con calcio para ambas variedades mostraron menor ablandamiento y una reducción en la pérdida de peso durante el almacenamiento refrigerado, respecto a los controles. Los tratamientos con calcio no ocasionaron modificaciones significativas en el color superficial y antocianinas. La acidez, el pH y el contenido de azúcares no fueron afectados por los tratamientos. A fin de comprender la influencia del calcio sobre el ablandamiento, se extrajeron las paredes celulares de los frutos y se analizaron los cambios en la solubilización de pectinas y hemicelulosas. Los frutos tratados con calcio en ambas variedades mostraron en general un menor contenido de pectinas lábilmemente unidas a la pared y una mayor proporción de pectinas fuertemente unidas en comparación a los controles. Por el contrario, en las hemicelulosas no se encontraron modificaciones como consecuencia de los tratamientos con calcio. Los resultados sugieren que la fertilización cálcica en arándano cv. O'Neal y Bluecrop resulta de utilidad permitiendo reducir el ablandamiento, la pérdida de peso y la degradación de componentes de naturaleza péctica.

**Palabras clave:** ablandamiento, pectina, hemicelulosa, calidad, “berries”

## **Abstract**

In this work we evaluated the effect of calcium fertilization on blueberry (*Vaccinium corymbosum*) quality, postharvest life and cell wall metabolism. Blueberry plants cv. O' Neal and Bluecrop, grown in an orchard in San Pedro, Bs As were fertilized with 600 kg de  $\text{CaSO}_4 \text{ ha}^{-1}$ . Corresponding plants without calcium application were used as controls. The following season fruit were harvested, taken to the laboratory, put in polyethylene terephthalate (PET) trays and stored at 2°C for 23 d. During storage we analyzed fruit weight loss, lightness, color, anthocyanin content, acidity, pH, sugars, firmness, color and decay. Calcium-treated fruit for both varieties showed reduced softening and weight loss during low temperature storage as compared to control fruit. The treatments did not cause negative modifications in color or anthocyanin content. Fruit pH, acidity or sugars were not affected either. In order to understand the influence of calcium on softening, fruit cell walls were isolated and changes in pectin and hemicellulose solubilization were evaluated. Calcium-treated fruit for both varieties showed reduced content of loosely bound pectins and a higher proportion of tightly bound polyuronides than control fruit. In contrast, no differences in hemicelluloses were observed as a consequence of calcium applications. Results suggest that calcium fertilization in O'Neal and Bluecrop blueberries might be useful to reduce softening, weight loss and the degradation of pectic polysaccharides.

**Key words:** softening, pectin, hemicellulose, quality, "berries"

## **2. Introducción**



## **2.1. Ubicación sistemática y generalidades del cultivo de arándano**

Los arándanos azules, son frutos provenientes de arbustos perennes de hojas caducas, nativos de hemisferio Norte (Kron *et al.*, 2002). Pertenecen a la familia de las Ericáceas, al igual que los rododendros y las azaleas (Godoy, 2002). Sólo un pequeño grupo de especies del género *Vaccinium*, en el que se encuentra el arándano, tienen importancia comercial. La mayor extensión cubierta por este frutal corresponde al arándano bajo (*Vaccinium angustifolium*), que crece en forma silvestre en regiones frías de América del Norte (Godoy, 2002). Las especies de mayor importancia desde el punto de vista comercial son: *Vaccinium corymbosum*, (arándano alto o 'highbush') que representa más del 80% del total (Fabián *et al.*, 2001), siguiéndole *Vaccinium ashei* (arándano ojo de conejo "rabbiteye") con un 14% del volumen total. El arándano alto "highbush" produce frutos con mejor calidad organoléptica, tamaño y sabor, debido a que fue sometido a un largo proceso de mejoramiento genético (Godoy, 2002). Desarrolla bien en regiones frías, con inviernos largos. De todos modos existen 2 tipos de arándano alto: El Norte y El Sur. Dentro del primero se encuentran variedades comerciales como Earliblue, Blueray, Jersey, Brigitta y Bluecrop entre otras. Tienen altas exigencias en horas de frío para florecer y fructificar (800-1.200). Bluecrop es la variedad más plantada en el mundo. Tiende a la sobre producción y permite obtener frutos firmes, de tamaño medio con cicatriz pequeña, de buen sabor y que se adaptan a la cosecha mecánica. Las variedades de arándano alto del Sur poseen un requerimiento de horas de frío inferior a 600 h. En general tanto la calidad obtenida como la producción son inferiores que con el arándano alto del Norte. Algunas variedades son Sharpblue, Cooper, Georgiagem, Cape Fear y O'Neal (Godoy, 2002). Esta última es común en la zona norte de la provincia de Buenos Aires y Entre Ríos, llegando a un 40% de la superficie implantada (Pescie y López, 2007). O'Neal posee buena calidad de fruta (buen tamaño de excelente firmeza, cicatriz pequeña, sabor dulce y aromático). La floración es temprana pero extendida.

**Tabla 1:** Nombre vulgar y científico de diferentes especies del género *Vaccinium*.

<b>Nombre científico</b>	<b>Nombre común</b>	<b>Distribución</b>
<i>Vaccinium corymbosum</i>	Arándano alto ('highbush')	Cultivado
<i>Vaccinium ashei</i>	Arándano ojo de conejo ('rabbit eye')	Cultivado
<i>Vaccinium angustifolium</i>	Arbusto bajo o lowbush	Silvestre
<i>Vaccinium ovatum</i>	Arándano siempre verde ('evergreen huckleberry')	Silvestre
<i>Vaccinium myrtillus</i>	Mirtillo	Silvestre
<i>Vaccinium membranaceum</i>	Arándano azul montano ('mountain blueberry')	Silvestre
<i>Vaccinium macrocarpon</i>	Arándano rojo ('cranberry')	Silvestre y cultivado
<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	Arándano europeo ('lingonberry')	Silvestre

El arándano 'ojo de conejo' ('rabbiteye' blueberry) es considerada una especie de menor importancia económica pero más rústica (Godoy, 2002). Una vez implantado, se adapta perfectamente a diversos climas y soporta muy bien el frío llegando a resistir temperaturas de  $-20$  a  $-30^{\circ}\text{C}$  cuando la madera está lignificada.

La propagación de plantas de arándano puede realizarse por semillas, por hijuelos, mediante el enraizamiento de estacas o por micro-propagación. La propagación de semillas se realiza con fines de investigación y/o en el desarrollo de nuevas variedades. La propagación por estacas (aparentemente sencilla) posee algunas desventajas: baja eficiencia en el enraizamiento y propagación de enfermedades indeseables para el cultivo. Por último, la micro-propagación tiene la ventaja de permitir obtener material libre de enfermedades, siendo su desventaja el alto costo. A pesar de esto, los productores se vuelcan a comenzar sus producciones con plantas obtenidas por micro-propagación debido a su mayor vigor inicial, menor muerte de plantas en estados tempranos y por tratarse de plantas libres de enfermedades.

### **Implantación**

La edad de la planta más indicada para realizar la implantación en el campo es de 2 años. Si bien las plantas de 1 año pueden poseer menor precio, presentan una tasa mayor de mortandad luego del transplante. La implantación debe realizarse cuando las plantas se encuentran en receso (otoño-invierno). En nuestro país se ha plantado exitosamente en primavera, manteniendo refrigerado el material a implantar con raíz desnuda. El cultivo se realiza en camellones cubiertos con plástico, separados entre sí a 3 metros de distancia y con una separación entre plantas que puede variar entre 1 y 1,5 m (lo que representa una densidad de entre 2.000 a 3.300 plantas por hectárea). Requiere suelos ácidos, bien drenados y que no se aneguen por períodos prolongados. La preparación del suelo debe ser óptima, ya que errores en el momento de implantación resultarían en problemas para todo el período productivo. Se pueden utilizar sustratos (turba, corteza de pino, perlita, etc.) mezclados con los suelos en los hoyos de plantación, lo que ayuda a reducir el pH del suelo y a proveer una estructura apropiada. El sistema radicular del arándano es muy delicado y superficial. El riego por goteo permite mejorar la eficiencia del uso del agua, realizar la aplicación de fertilizantes inorgánicos y regular en forma más controlada el pH del suelo de acuerdo a los requerimientos de la planta (pH ácidos entre 4,5 y 5,5). El pH se regula con ácidos como el ortofosfórico, nítrico, sulfúrico o clorhídrico. Este último no se recomienda debido a su aporte de cloruro que puede ser nocivo para las plantas. (Vidal, 2003).

Otra cuestión a tener en cuenta es que el viento es una limitante de este cultivo, principalmente en los primeros años, ya que puede llegar a desplazar las plantas poco

enraizadas dañándolas y favoreciendo su deshidratación, por lo que se recomienda el uso de cortinas forestales para resguardar al cultivo. En algunas regiones, es importante contar con las precauciones necesarias para evitar o minimizar los daños por granizo que puede llegar a destruir todo el cultivo o bien dañarlo gravemente. Para esto, se utilizan mallas plásticas que se colocan sobre los cultivos. Si bien esto determina un alto costo, es altamente necesario a menos que se cuente con un seguro contra granizo. En producciones con un buen manejo las plantas llegan a tener una vida de hasta 30 años.

### **Mantenimiento y labores posteriores**

El manejo de la planta es relativamente sencillo ya que requiere solamente de la realización de podas de formación y la eliminación de ramas improductivas, permitiendo siempre la entrada de luz y manteniendo el centro de la planta bien abierto. También se puede hacer un raleo de flores para aumentar el tamaño de los frutos y su homogeneidad.

El manejo de malezas se realiza mediante la utilización de herbicidas post-emergentes sistémicos y de contacto. Debido a que estos herbicidas afectan al cultivo, se han utilizado protecciones para que el producto no entre en contacto con la planta.

Generalmente, el arándano no es demasiado exigente en fertilidad. Debido al comportamiento especial de este frutal desde el punto de vista nutricional, muchas prácticas que son comunes para los otros “berries”, no son apropiadas para arándanos (Vidal, 2003).

**Tabla 2:** Comparación de niveles foliares críticos y extracción de nutrientes por tonelada de producción para arándano alto “highbush”, frambuesa y frutilla (Vidal, 2003).

Nutriente	Nivel foliar crítico (%)			Extracción (kg t <sup>-1</sup> )		
	Arándano	Frambuesa	Frutilla	Arándano	Frambuesa	Frutilla
<b>Nitrógeno</b>	1,80	2,75	2,80	4,7	16,9	2,5
<b>Fósforo</b>	0,12	0,30	0,25	0,5	1,6	0,5
<b>Potasio</b>	0,35	1,50	1,50	4,0	8,0	3,8
<b>Calcio</b>	0,40	0,60	0,70	1,4	5,7	1,1
<b>Magnesio</b>	0,12	0,40	0,25	0,8	2,3	0,5

Se observa, que los requerimientos de estas tres especies difieren considerablemente. Por ejemplo, comparando arándanos con frambuesa, para un similar nivel de producción, las necesidades para el primero son considerablemente menores y corresponden entre un tercio a la mitad de lo requerido por frambuesa (**Tabla 2**). En

frutilla la situación es diferente, puesto que esta especie presenta niveles de producción considerablemente más altos y rendimientos normales del orden de 25-30 toneladas por hectárea. Los requerimientos del arándano, como los de otras especies, difieren de acuerdo al estado fenológico en que se encuentra la planta (Vidal, 2003).

### **Enfermedades**

Como en todos los cultivos, la aparición de enfermedades depende de 3 factores, la presencia del patógeno, que las condiciones ambientales sean favorables para que se desarrolle y que la planta sea susceptible. En cultivos de arándano, bajo condiciones ambientales secas durante la floración y fructificación, es común la aparición de frutos momificados por acción de *Monilia vaccinii-corymbosi*. En zonas con clima húmedo, puede aparecer el tizón de la flor ocasionado por *Botrytis cinerea* y el cáncer bacteriano causado por *Pseudomonas syringae*. Otras enfermedades incluyen la pudrición de las raíces causada por *Phytophthora cinnamomi* y *Armillaria mellea*, el cancro del brote o caña causado por *Botryosphaeria corticis*, el tizón del brote o caña causada por *Botryosphaeria dothidea*. Todas estas afectan principalmente a ramas jóvenes y tallos que son los que van a producir la fruta al año siguiente. Algunas causan debilitamiento, otras la muerte, pero en ambos casos producen una disminución tanto del rendimiento como de la calidad de la fruta.

## **2.2. Aspectos generales de composición, fisiología y tecnología poscosecha de arándano**

Los arándanos son similares a las bayas pero a diferencia de estas derivan del gineceo ínfero. Los frutos son esféricos, de color azul intenso y pueden variar de 1 a 2 cm de diámetro. El botón en el extremo distal de los mismos corresponde a la zona de inserción del cáliz. Los frutos se desarrollan durante 2-3 meses luego de la floración dependiendo del cultivar, condiciones climáticas y vigor de las plantas (Godoy, 2002). El pequeño tamaño es uno de los factores que limita la comercialización de diversos frutos. El mismo es afectado entre otros por las prácticas culturales y por la disponibilidad de agua durante el desarrollo. Los frutos viran primero del verde al rosado y finalmente al azul cuando se encuentran maduros. La superficie se encuentra recubierta de cera, la que posee influencia sobre la vida útil del producto ya que contribuye a disminuir el ataque de patógenos y previene la deshidratación (Fabián *et al.*, 2001). La coloración superficial azul es el índice de madurez más utilizado para determinar el momento de cosecha (Mitcham *et al.*, 2006). El tamaño de los frutos se incrementa aún luego de que la fruta llega al color azul principalmente por la absorción de agua y expansión celular,

por lo que el adelantamiento de la cosecha se traduce en una reducción en el rendimiento (Vicente *et al.*, 2007b). Los azúcares continúan su acumulación hasta etapas bien tardías del desarrollo, por lo que la cosecha anticipada también resulta en frutos con menor calidad desde el punto de vista organoléptico.

La pulpa de los frutos presenta en estados tempranos clorofila. El  $\beta$ -caroteno, es el principal carotenoide encontrado en arándano. El color de los frutos maduros está asociado con la acumulación de antocianinas. Estas son flavonoides encuentran ampliamente distribuidas en el reino vegetal (Dugo *et al.*, 2001). Son solubles en agua (Hardenburg *et al.*, 1986) y se encuentran raramente en su forma libre como antocianidinas y más comúnmente formando glicósidos con azúcares. La acumulación de estos pigmentos, además, depende del estado de maduración, del cultivar considerado y de otros factores de cultivo como la posición en la planta y el sombreado (Vicente y Sozzi, 2008). Más allá de su rol en la determinación del color, las antocianinas poseen importancia desde el punto de vista nutricional ya que son antioxidantes naturales (Satué-Gracia *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 1996). Ha sido descrito que la baja ingesta de frutas y hortalizas duplica el riesgo de diversos tipos de cáncer y también incrementa la incidencia de enfermedades cardiovasculares y cataratas entre otras, comparado con la alta ingesta (Ames *et al.*, 1993).

El arándano se ubica dentro de los frutos con mayor poder antioxidante (Wu *et al.*, 2004). Varios trabajos han sugerido que el consumo de “berries”, podría tener efectos beneficiosos en la prevención de ciertas enfermedades crónicas y degenerativas asociadas con el daño oxidativo (Heinonen *et al.*, 1998; Meydani, 2001; Cozzi *et al.*, 1997). Además de las antocianinas, los frutos blandos son ricos en ácidos fenólicos que también poseen capacidad antirradical (Zadernowski *et al.*, 2005). El ácido ascórbico es otro antioxidante de importancia en frutos. Este componente es esencial para primates y otras especies (Agius *et al.*, 2005). A pesar de que el arándano no se encuentra dentro de los frutos con mayor contenido de vitamina C, sus niveles son relativamente altos **(Tabla 3)**.

**Tabla 3:** Composición de frutos de arándano. (USDA National Nutrient Database for Standard Reference, 2009).

Componente	Unidades	Contenido cada 100 g
Agua	g	84,21
Energía	kcal	57
Proteína	g	0,74
Lípidos	g	0,33
Cenizas	g	0,24
Carbohidratos	g	14,49
Fibra	g	2,4
Azúcares totales	g	9,96
Sacarosa	g	0,11
Glucosa	g	4,88
Fructosa	g	4,97
Almidón	g	0,03
Calcio	mg	6
Hierro	mg	0,28
Magnesio	mg	6
Fósforo	mg	12
Potasio	mg	77
Vitamina C	mg	9,7
Tiamina	mg	0,037
Riboflavina	mg	0,041
Niacina	mg	0,418
Ácido pantoténico	mg	0,124
Vitamina B-6	mg	0,052
Folato	μg	6
Vitamina E	mg	0,57
Vitamina K	μg	19,3
β-caroteno	μg	32
Luteína + zeaxantina	μg	80

### **Sólidos solubles (SS) y acidez**

Los azúcares simples (SS) son los principales componentes de los sólidos solubles (Kader, 2002). Los azúcares más abundantes que se encuentran en arándano son la glucosa y la fructosa (**Tabla 3**). Se ha sugerido un nivel de 10% de SS para cosechar los frutos (Kader, 2002). El protocolo de calidad para arándano fresco estipula un contenido mínimo de 7 grados brix (SAGPYA, 2007b), que es un valor extremadamente bajo. La acidez es otro factor de importancia afectando la aceptación por parte de los consumidores. Los principales ácidos presentes en arándano son el quínico y el cítrico y su contenido normalmente disminuye durante la maduración (Ayaz *et al.*, 2001).

### Aspectos fisiológicos

Los arándanos poseen una tasa respiratoria muy elevada (**Tabla 4**). A fin de reducir la actividad metabólica resulta fundamental el enfriamiento rápido luego de la cosecha (Vicente y Sozzi 2008).

**Tabla 4:** Actividad respiratoria de frutos de arándano (Mitcham *et al.*, 2006).

Temperatura	mL CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	
°C	Arándano azul	Arándano rojo
0	3	2
10	9	4
20	34	9

Los arándanos azules a pesar de tener una baja producción de etileno (< 0.1 µL C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> a 20°C) son frutos climatéricos (Lipe, 1978; Ismail y Kender, 1969, Ban *et al.*, 2007). La remoción de esta hormona de los sitios de almacenamiento permite reducir la incidencia de enfermedades de poscosecha (Mitcham *et al.*, 2006).

### Cosecha y manejo poscosecha

Para efectuar la cosecha se requiere una mano de obra considerable y en un período relativamente corto, lo que habrá de tenerse en cuenta antes de iniciar cualquier emprendimiento. La misma puede hacerse manualmente a granel para una selección posterior antes del embalado, o directamente en los envases definitivos de exportación. Existe la posibilidad de incorporar cosechadoras mecánicas como en Estados Unidos, no obstante este método de cosecha es en general más apropiado en fruta que se destina a la industria. La fruta madura presenta cera (pruina) que no debe ser removida ya que son las que otorgan protección durante el almacenamiento poscosecha, lo que implica cierto cuidado en la recolección.

Antes, durante y luego del envasado, el procedimiento fundamental de la poscosecha es la inmediata refrigeración para preservar la calidad de la fruta hasta su consumo (Kader, 2002; Mitchell, 1992). Los retrasos en el enfriamiento en “berries” resultan en mayor ablandamiento, deshidratación y pérdida de azúcares, ácidos y vitamina C (Nunes *et al.*, 1995; Jackson *et al.*, 1999). Con buen manejo de la cadena de frío, los arándanos pueden alcanzar una vida media de entre 14-21 días. La vida poscosecha más prolongada se obtiene almacenando la fruta a 0°C. Para minimizar la pérdida de agua, la humedad relativa se debe mantener a 90-95% en el almacenamiento y en el entorno de la fruta, siempre bajo temperaturas óptimas (Mitcham *et al.*, 2006). Los “berries” son en general muy tolerantes a las altas concentraciones de CO<sub>2</sub> (Watkins *et al.*, 1999) y el arándano no es la excepción. Las

atmósferas modificadas y controladas pueden suplementar los beneficios de la refrigeración y reducir las pérdidas cuali- y cuantitativas en poscosecha. Los principales beneficios de la utilización de atmósferas enriquecidas en dióxido de carbono incluyen la reducción en la incidencia de enfermedades, menor ablandamiento y retraso en la maduración. Kim *et al.*, (1995) encontraron que las condiciones óptimas de almacenamiento en atmósferas modificadas para arándano fueron 17-18% CO<sub>2</sub> y 9% O<sub>2</sub>.

### **2.3. Producción nacional y mundial**

La producción mundial de arándano es de 280 mil toneladas habiéndose incrementado en un 100% en la última década (**Tabla 5**). El volumen total de producción proviene, un 30% como consecuencia del cultivo de arándanos y en un 70% a partir de poblaciones silvestres. De acuerdo a las estadísticas de la FAO, el mayor productor mundial de esta fruta es Estados Unidos con 70% del total. Canadá también se constituye como un importante productor de arándano con un 20% del total. Asimismo estos dos países son los principales consumidores del producto. A fin de satisfacer la demanda en aumento, la superficie de cultivo en los Estados Unidos se incrementó en más de un 60% en los últimos 15 años (Demchak *et al.*, 2005). La producción en este país se ha más que duplicado desde finales de 1970. Un marcado incremento en la producción ha ocurrido en Michigan, donde se localiza más del 40% del área de producción, y en el sudeste de Estados Unidos (Demchak *et al.*, 2005). Los frutos se destinan a industria en un 60%, para la producción de dulces, yogurt, jugo natural, pasteles, helados y al mercado de fruta fresca en un 40%.

Debido a la fácil adaptabilidad del cultivo de arándano y a sus buenas posibilidades comerciales, este ha comenzado a difundirse en diversos sitios dentro de los hemisferios norte y sur. El período de producción en el Hemisferio Norte abarca los meses de mayo a septiembre, mientras que en el hemisferio sur se extiende en los meses de noviembre a mayo. En Argentina, comenzó a tomar interés a partir de la década del 90 (Fabián *et al.*, 2001).

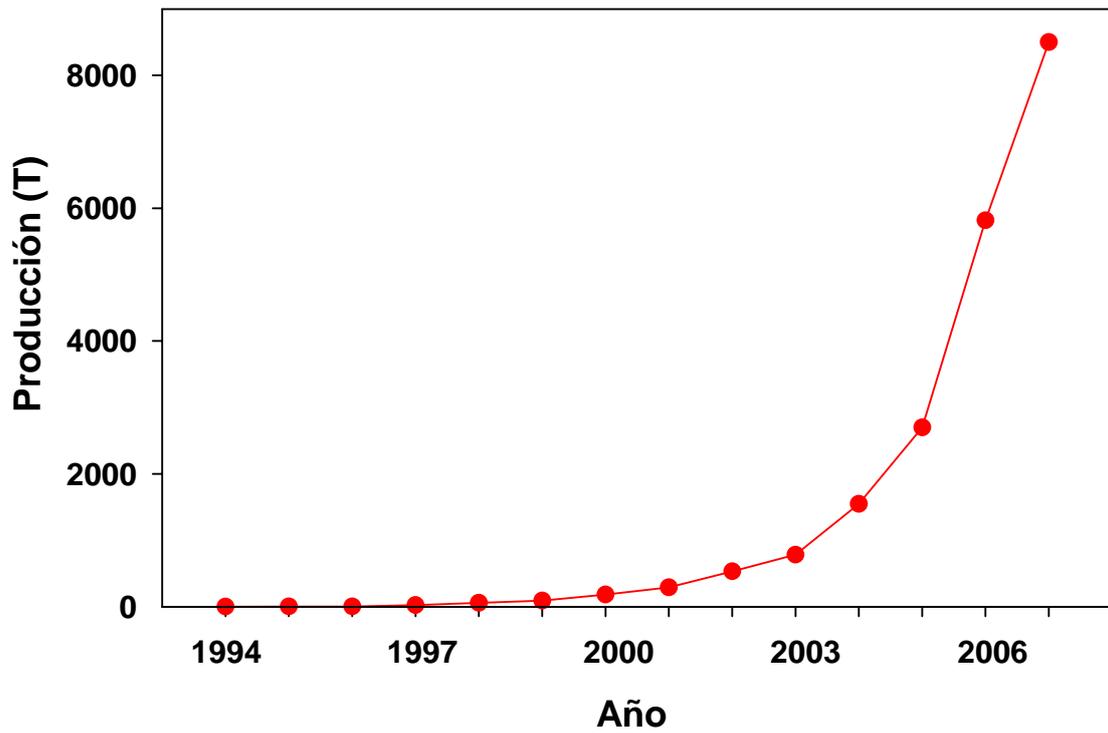
**Tabla 5:** Evolución de la producción mundial en los principales países productores de arándanos (miles de toneladas) en los últimos 10 años (FAOSTAT, 2009).

	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
<b>Canadá</b>	35	64	59	68	65	79	82	69	82	77
<b>EEUU</b>	69	110	134	121	115	122	125	136	162	165
<b>Mundo</b>	141	214	240	243	228	254	249	240	283	279

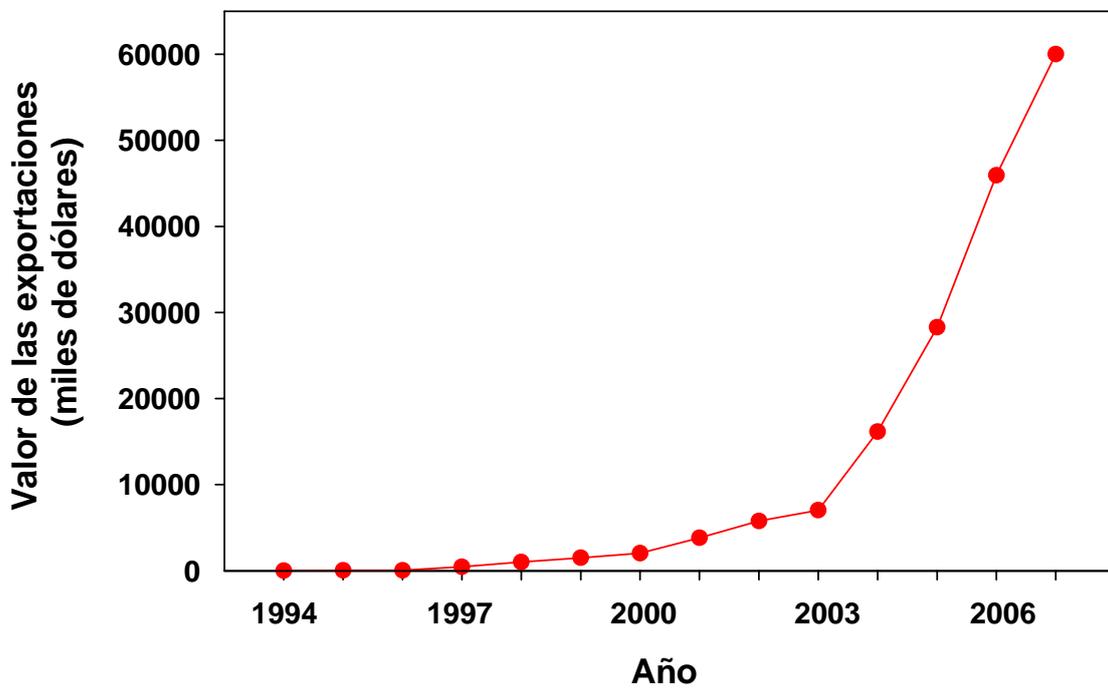
La producción tomó mucho más dinamismo luego de 1994 cuando Estados Unidos habilitó el ingreso del producto argentino (SAGPYA, 2007a). A pesar de esto, fue creciendo levemente hasta el año 2001, cuando exportar arándanos se hizo un negocio muy rentable por el contexto económico y es ahí en donde se observó un crecimiento exponencial en la cantidad de fruta cosechada (**Figura 1**). La producción se incrementó rápidamente llegando a 6.000 toneladas para el año 2006. La región del NEA se estima que concentra el 40% de la producción nacional, de los cuales un 85% corresponde al Departamento de Concordia. También existen establecimientos productivos en Buenos Aires, Tucumán, Salta, Santa Fe, Corrientes, Córdoba, San Luís, Mendoza y la patagonia argentina, que concentra su oferta a comienzos de la contra estación con precios ventajosos (Fabián *et al.*, 2001).

El 90% de la fruta producida en la Argentina es exportada ya que no hay hábitos de consumo y por otra parte los precios de venta deberían ser sustancialmente menores que los que se obtienen mediante la exportación. El ingreso de las divisas sigue la curva de volumen de exportaciones (**Figura 2**). Desde el año 1994 hasta el año 2000 el aumento de las divisas fue pequeño con un valor total para este último año de 3 millones de dólares. Posteriormente y al incrementarse los volúmenes de exportación, también lo hizo la entrada de divisas. En el mismo período, el volumen de divisas superó en el año 2006 los 40 millones de dólares (**Figura 2**).

La Argentina para poder ingresar al mercado de Estados Unidos debe cumplir ciertas normas de exigencia en cuanto a calidad y sanidad (tratamientos cuarentenarios para mosca de los frutos), lo que hace que esta fase final de la producción de arándanos sea tan importante como el proceso realizado hasta la obtención del fruto (SAGPYA, 2007a).

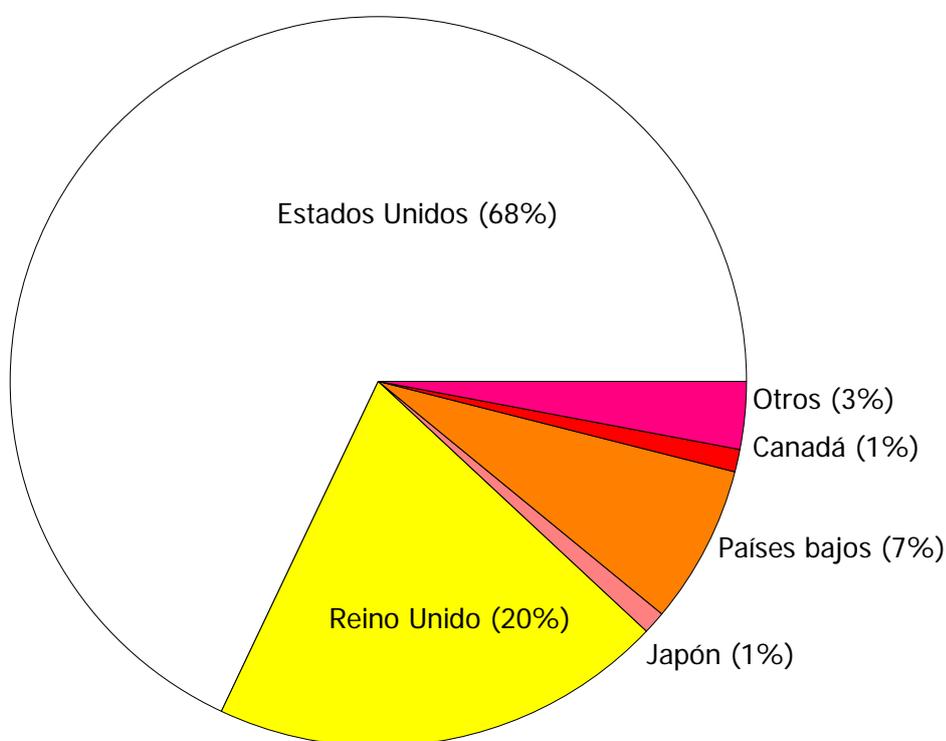


**Figura 1:** Evolución de la producción de arándano en Argentina (SAGPYA, 2007c, 2008).



**Figura 2:** Evolución del valor de las exportaciones de arándano en Argentina (SAGPYA, 2007c, 2008).

La fruta destinada a Estados Unidos se fumiga con bromuro de metilo a 21°C, la duración de los tratamientos es de 3,5 horas y la concentración requerida de 32 g m<sup>-3</sup>. Posteriormente se realiza la evacuación de la cámara de tratamiento y se refrigera la fruta a 0,5-1°C. También se encuentra aprobada la conservación a 1,67°C por 17 d, como tratamiento alternativo al bromurado, para el control de mosca de los frutos, tratamiento que podría ser de interés en el caso de envíos marítimos. En la exportación aérea se adicionan geles refrigerantes, manta térmica y se cierran los “pallets” (Anderson *et al.*, 2006). Luego la fruta se carga en camiones con destino al Aeropuerto de Ezeiza desde donde se la envía al país comprador. Debido a la contra estación que tiene esta producción, Argentina encuentra un mercado amplio para colocar su producción y a un muy buen precio. Los principales destinos de exportación incluyen a Estados Unidos (69%) y Reino Unido (18%) (**Figura 3**).



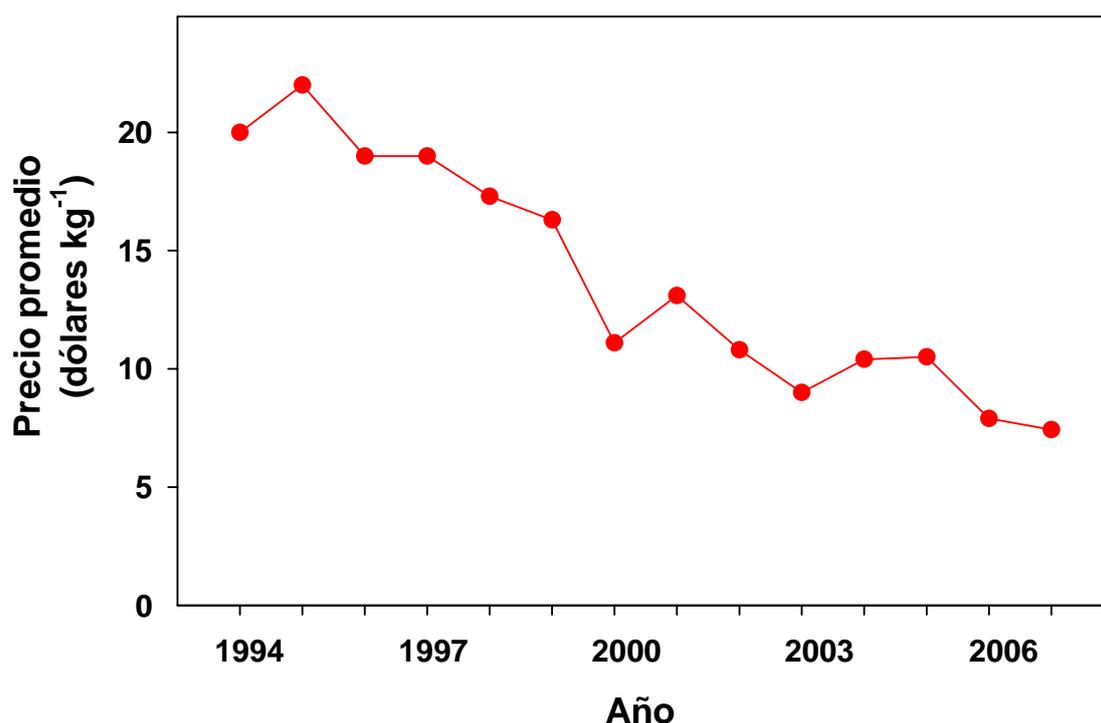
**Figura 3:** Distribución de las exportaciones de arándano de la Argentina (SAGPYA, 2008).

La fruta de menor tamaño se utiliza para la industria, principalmente en la producción de jaleas y dulces. Nuestros competidores más directos, debido a que sus producciones son colocadas en el mismo destino (Estados Unidos), son Chile y Nueva Zelanda con una producción superior a la nuestra. A diferencia de Australia y Zimbabwe

cuya producción total tiene como destino la Unión Europea. En la fruta destinada a Europa se evita el bromurado y se enfría directamente (Anderson *et al.*, 2006).

Las dos formas de comercialización existente son: a consignación, es decir, vender al precio que rige en el momento, o por encargo, fijando el precio previamente. En el proceso de comercialización y logística de la fruta, el transporte es un punto fundamental. La **Figura 4** muestra como han descendido los precios en los últimos años y con ellos, probablemente, el margen de ganancia de los sistemas productivos.

Los principales problemas desde el punto de vista del manejo poscosecha de arándano y otros 'berries' son el ablandamiento excesivo, la deshidratación y la incidencia de enfermedades ocasionadas principalmente por *Botrytis sp* y *Rhizopus* (Salunkhe y Desai, 1984; Mitcham *et al.*, 2006). Debido al rápido aumento de la exportación de fruto fresco, surgieron dificultades como la falta de espacio en las bodegas aéreas. La exportación de la fruta en forma aérea por otra parte resulta en un elevado costo. En ese contexto es que resultaría de interés evaluar la posibilidad de realizar envíos por flete marítimo.



**Figura 4:** Evolución de los precios medios de exportación de arándano en Argentina (SAGPyA, 2007c, 2008).

Si bien esto podría resultar de interés por la reducción de costos y como fuente alternativa de flujo del producto, existe una marcada diferencia en el tiempo de arribo de los frutos a destino. Mientras que los envíos aéreos requieren de un período de 2 o 4 días, el transporte marítimo podría requerir 15-20 días. En ese contexto, resulta crucial evaluar diferentes métodos disponibles para mantener la calidad y extender la vida útil de la fruta. Es aquí donde se unen e interrelacionan los conocimientos del Ingeniero Agrónomo con especialistas de otras áreas para poder dilucidar los mecanismos fisiológicos y bioquímicos del deterioro de frutos y diseñar estrategias para prolongar la duración. Algunas alternativas que deben proponerse para los envíos marítimos incluyen, la incorporación de cámaras de frío en los campos productores (de modo individual o asociativo, dependiendo de la viabilidad económica resultante en cada caso), empresas comercializadoras con cámaras de frío, equipos de transporte con adecuados sistemas de refrigeración, así como el incremento de la cantidad de contenedores de atmósfera controlada. Todo esto hace a la mejora del comportamiento poscosecha de la fruta. También requeriría un mayor ajuste en el manejo del cultivo ya que aspectos de manejo como la poda, conducción, riego y fertilización pueden tener importantes efectos sobre el comportamiento de los frutos luego de la cosecha.

#### **2.4. Efecto de la fertilización cálcica sobre el suelo y calidad de frutos**

El calcio es un nutriente esencial que juega un rol muy importante en el crecimiento de las plantas. La aplicación de calcio en forma de enmienda contribuye a mejorar la estructura, la conductividad hidráulica y la permeabilidad (Wilson *et al.*, 2004). Fettolini (1998) y Durand (1999) hallaron que el agregado de yeso en suelos “barreros” de Entre Ríos logró disminuir el pH y el sodio intercambiable, mientras que la estabilidad estructural mostró una recuperación. Este elemento es además esencial para los microorganismos que transforman los residuos de cultivos en materia orgánica, liberando nutrientes y mejorando la estructura y las propiedades hidráulicas del suelo. Más allá de su influencia sobre toda la planta y sobre el suelo el calcio aparece como un nutriente de gran importancia en las producciones frutícolas ya que puede afectar marcadamente la calidad de los productos. El ablandamiento controlado es un cambio deseado en frutos desde el punto de vista del consumidor. No obstante, la excesiva pérdida de firmeza es un problema importante en la tecnología de poscosecha ya que reduce significativamente la capacidad de almacenamiento, la aceptabilidad por parte de los consumidores e incrementa la susceptibilidad al ataque de patógenos (Cantú *et al.*, 2007; Somerville *et al.*, 2004; Cantú *et al.*, 2008). La firmeza de los tejidos es afectada por diferentes factores. Por ejemplo puede modificarse debido a cambios en la presión de turgencia de las células (Shackel *et al.*, 1991; Salentijn *et al.*, 2003). El daño en

membranas, la deshidratación y la elongación celular también se encuentran involucrados en modificaciones texturales en ciertos frutos (Sexton *et al.*, 1997; Waldron *et al.*, 2003). El almacenamiento a temperaturas cercanas a 0°C con una humedad relativa de 90-95% es recomendable para reducir los cambios texturales ocasionados por la deshidratación. Otros factores importantes que contribuyen a la pérdida de firmeza durante el almacenamiento poscosecha de frutos incluyen a los cambios en la estructura y composición de la pared celular (Brummell y Harpster, 2001; Vicente *et al.*, 2007c). Las paredes celulares son estructuras compuestas de polisacáridos, proteínas, compuestos fenólicos e iones como el calcio, que participa formando puentes entre pectinas (Carpita y Gibeaut, 1993; Brett y Waldron, 1996; Carpita y McCann, 2000). En ciertos casos las aplicaciones de calcio han sido efectivas para reducir el ablandamiento y el ataque de patógenos en frutas y hortalizas (Poovaiah, 1986). En frutilla, por ejemplo, aplicaciones foliares de CaCl<sub>2</sub> permitieron retrasar la maduración y el desarrollo de hongos (Chéour *et al.*, 1990, 1991; Wójcik y Lewandowski, 2003). Estos tratamientos retrasaron la degradación de la pared celular y consecuentemente la colonización por microorganismos patógenos. Lara *et al.* (2004) también hallaron que frutos infiltrados con soluciones de calcio mantuvieron mayores niveles de pectinas unidas iónicamente que pueden contribuir a mantener de la integridad de las paredes celulares. La inmersión en soluciones de CaCl<sub>2</sub> 1% fue efectiva para controlar enfermedades y mantener la firmeza en frambuesa (Montealegre y Valdés, 1993) y arándano (Hanson *et al.*, 1993). No obstante, otros trabajos no han encontrado efectos beneficiosos como consecuencia de tratamientos con CaCl<sub>2</sub> (Erincik *et al.*, 1998). La eficiencia de este tipo de tratamientos depende principalmente de la tasa de absorción del calcio por los tejidos (Swietlik y Faust, 1984) por lo que la baja movilidad y una reducida traslocación de este elemento podrían explicar estas inconsistencias. Otros factores que podrían explicar las divergencias entre los trabajos realizados incluirían: 1) la aplicación del nutriente en condiciones en las que no existieran deficiencias o bien 2) la incapacidad de las pectinas para unir al calcio por encontrarse con alto grado de esterificación. En función de esto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la fertilización cálcica sobre la calidad, comportamiento poscosecha y degradación de pared celular de frutos de 2 variedades comerciales de arándano.

### **3. Objetivos e hipótesis**



### **Objetivos:**

**1- Evaluar el efecto de la fertilización cálcica sobre la calidad y ablandamiento poscosecha de dos variedades de arándano.**

**2- Evaluar el efecto de la fertilización cálcica sobre el metabolismo de pared celular de arándano.**

### **Hipótesis de trabajo:**

**La fertilización cálcica en precosecha permite reducir el ablandamiento y la degradación de pared celular de arándano sin afectar negativamente otros aspectos de calidad.**

## **4. Materiales y métodos**



#### **4.1. Material vegetal y tratamientos**

Se realizaron tratamientos de fertilización con calcio ( $600 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{CaSO}_4$  aplicado al voleo sobre el lomo) en plantas de arándano en una unidad de producción de 5 has, ubicada en la localidad de San Pedro, Pcia. de Bs. As. Los tratamientos se realizaron en 2 variedades (O'Neal y Bluecrop) luego de la cosecha. En la temporada siguiente se cosecharon los frutos en estado de madurez comercial (100% de color superficial azul). Correspondientes controles sin tratamientos se cosecharon en el mismo estado de madurez y se trasladaron al laboratorio. Los frutos control y tratados con calcio se colocaron en envases plásticos y se almacenaron a  $2^\circ\text{C}$  durante 23 días. Se prepararon 10 bandejas por tratamiento y variedad, conteniendo 50 frutos cada una. Se realizaron 2 cosechas independientes para cada variedad analizada. Luego del almacenamiento, las muestras se utilizaron para realizar las determinaciones de calidad o bien se congelaron en  $\text{N}_2$  líquido y se almacenaron a  $-20^\circ\text{C}$  hasta su uso.

**Tabla 6:** Contenido de calcio en lomos con y sin fertilización cálcica.

		Calcio (meq. $100 \text{ g}^{-1}$ )
<i>O' Neal</i>	<i>Control</i>	6,1
	<i>Calcio</i>	22,0
<i>Bluecrop</i>	<i>Control</i>	8,2
	<i>Calcio</i>	15,2

#### **4.2. Efecto de la fertilización cálcica y refrigeración sobre la calidad de arándano**

##### **4.2.1. Pérdida de peso**

Los frutos se pesaron al comienzo del experimento y durante el almacenamiento a  $2^\circ\text{C}$  (7, 14 y 21 d). Los resultados se expresaron como porcentaje de pérdida de peso. Se analizaron 8 bandejas conteniendo 50 frutos cada una para cada variedad, tratamiento, cosecha y tiempo de almacenamiento considerado.

##### **4.2.2. Color superficial y antocianinas**

El color superficial se determinó con un colorímetro (Minolta, Modelo CR-300). Se obtuvieron los valores  $L^*$   $a^*$  y  $b^*$ . Se realizaron 30 determinaciones para cada variedad, cosecha, tratamiento y tiempo de almacenamiento. Para la determinación de antocianinas los frutos (0,05 g) se procesaron con 20 mL de metanol-HCl (1% v/v). Luego la suspensión obtenida se centrifugó a  $15.000 \times g$  por 10 min a  $4^\circ\text{C}$ , y se midió la absorbancia del sobrenadante a 515 nm. Se realizaron 2 moliendas para cada variedad,

cosecha, tratamiento y tiempo de almacenamiento y se realizaron 2 extracciones independientes para cada molienda. Los resultados se expresaron como gramos de cianidin-glucósido por kilogramo de fruto, utilizando  $\varepsilon = 29.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

#### **4.2.3. Firmeza**

Se utilizó un equipo Texture Analyzer equipado con una sonda plana de 2 mm de diámetro. Los frutos se deformaron mediante un ensayo de penetración de 6 mm a una velocidad de  $1 \text{ mm s}^{-1}$  y se registró la fuerza máxima durante el ensayo. Se realizaron 100 determinaciones para cada variedad, cosecha, tratamiento y tiempo de almacenamiento analizado. Los resultados se expresaron en Newtons (N).

#### **4.2.4. Acidez y pH**

La acidez se determinó procesando 8 gramos de fruto y colocándolos en 1 Erlenmeyer. Luego se adicionaron 100 mL de agua se determinó el pH inicial y se tituló con NaOH 0,04 N hasta pH 8,2 (AOAC, 1980). Los resultados se expresaron como porcentaje de ácido cítrico. Se realizaron dos moliendas para cada variedad, cosecha, tratamiento y tiempo de almacenamiento analizado. Asimismo las titulaciones se realizaron por duplicado.

#### **4.2.5. Azúcares**

El tejido congelado se procesó en un molinillo. A 0,8 gramos de este tejido se le agregaron 5 mL de etanol y se centrifugó a  $9.000 \times g$  por 10 minutos a  $4^\circ\text{C}$ . Se obtuvo el sobrenadante y se llevó a 100 mL con agua. Se realizaron 2 moliendas para cada variedad, cosecha, tratamiento y tiempo de almacenamiento con 2 extracciones independientes para cada molienda. La determinación de azúcares totales se realizó por el método de la antrona. Se tomaron alícuotas de 150 microlitros de muestra y se adicionaron 350 microlitros de agua. Luego se agregó 1 mL de antrona (2 g de antrona por litro de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  98% m/m) en hielo y se llevó a ebullición por 10 min. Los tubos se enfriaron en una mezcla de agua-hielo, se agitaron y se leyó la absorbancia a 620 nm. Se realizó una curva de calibración utilizando glucosa como patrón. Los resultados se expresaron en gramos por kilogramo de fruto fresco.

#### **4.2.6. Ataque de patógenos**

Se determinó la incidencia de frutos atacados durante el período de almacenamiento. Los resultados se expresaron como porcentaje de frutos atacados.

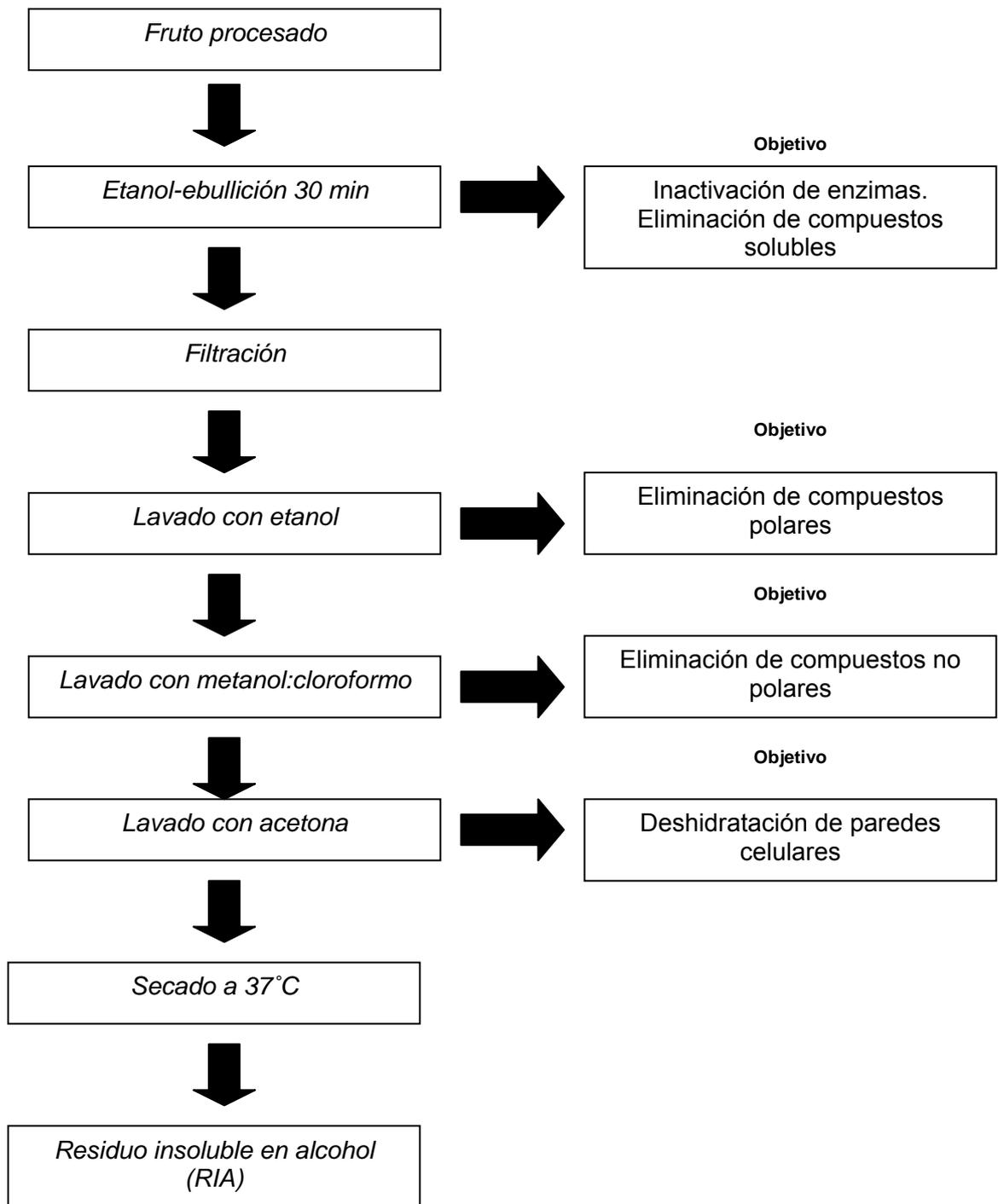
#### **4.2.7. Actividad respiratoria**

La producción de dióxido de carbono se determinó con un sensor de CO<sub>2</sub>. Los frutos (100 g) se colocaron en un recipiente hermético y se midió la producción de dióxido de carbono en función del tiempo. Se evitó una acumulación de dióxido de carbono superior al 1% ya que inhibiría la respiración. Se realizaron 3 determinaciones para cada variedad, cosecha, tratamiento y tiempo de almacenamiento. Los resultados se expresaron como mililitros de CO<sub>2</sub> producidos por kilogramo de fruto fresco en una hora.

### **4.3. Efecto de la fertilización cálcica y del almacenamiento refrigerado sobre el metabolismo de pared celular de arándano**

#### **4.3.1. Aislamiento de polisacáridos de pared celular**

Los polisacáridos de pared celular se obtuvieron como residuo insoluble en alcohol (RIA) de acuerdo a d'Amour *et al.*, (1993), con modificaciones menores. Aproximadamente 30 g de tejido congelado se homogeneizaron con 4 volúmenes de etanol y se mantuvieron en ebullición por 30 min para lograr la extracción de azúcares simples y otros componentes polares y para inactivar enzimas que pudieran degradar la pared celular (**Figura 5**). La suspensión se filtró a través de filtros de fibra de vidrio. El residuo obtenido se lavó dos veces con etanol (para remover restos de azúcares y pigmentos), dos veces con metanol:cloroformo 1:1 (para lograr la remoción de membranas y otros componentes menos polares) y 2 veces con acetona (para deshidratar las paredes). Luego el residuo (RIA) se llevó a estufa a 37°C por 2 días y se pesó. Se realizaron 2 obtenciones de RIA independientes para cada tratamiento, tiempo de almacenamiento y variedad analizada.

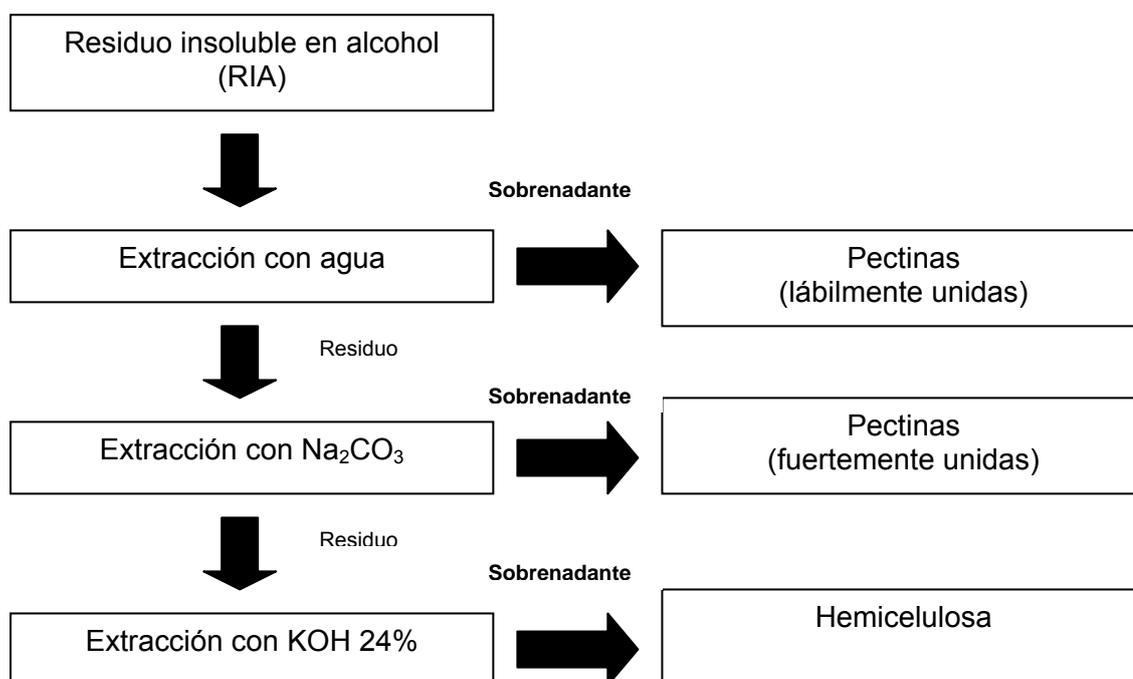


**Figura 5:** Esquema del proceso de obtención de paredes celulares (RIA) vegetales.

#### **4.3.2. Extracción y cuantificación de pectinas**

Los poliurónidos se aislaron de acuerdo a Vicente *et al.*, (2007a), con modificaciones menores. El procedimiento utilizado se observa en la **Figura 6**. Alícuotas de 100 mg de RIA se suspendieron en 15 mL de agua y se agitó durante 8 h a 20°C. La suspensión se filtró. Finalmente el residuo obtenido se resuspendió en 15 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,05 M y se extrajo luego de 8 h. La suspensión se centrifugó a 15.000 x g por

20 min y 4°C, el sobrenadante se denominó fracción soluble en Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. La concentración de ácidos urónicos y azúcares neutros, se determinaron por el método del m-hidroxidifenilo (Blumenkrantz y Asboe-Hansen, 1973) o por el método descrito por d'Amour *et al.*, (1993) respectivamente, utilizando ácido galacturónico y glucosa como estándares. Las determinaciones se realizaron por duplicado y los resultados se expresaron en miligramos de ácido galacturónico por gramo de fruto.



**Figura 6:** Esquema del proceso de fraccionamiento de paredes celulares (RIA) vegetales.

#### **4.3.3. Extracción y cuantificación de hemicelulosa**

El residuo proveniente de la extracción de pectinas se agitó por 8 h con 15 mL de KOH 24% m/v a 20°C. La suspensión se centrifugó a 10.000 x g por 20 min a 4°C, el sobrenadante se denominó fracción soluble en KOH 24% (FSK24%). La cuantificación de hemicelulosas se realizó por el método descrito por d'Amour *et al.*, (1993) utilizando glucosa como estándar. Las determinaciones se realizaron por duplicado y los resultados se expresaron como miligramos de glucosa por gramo de fruto.

#### **4.4. Análisis estadístico**

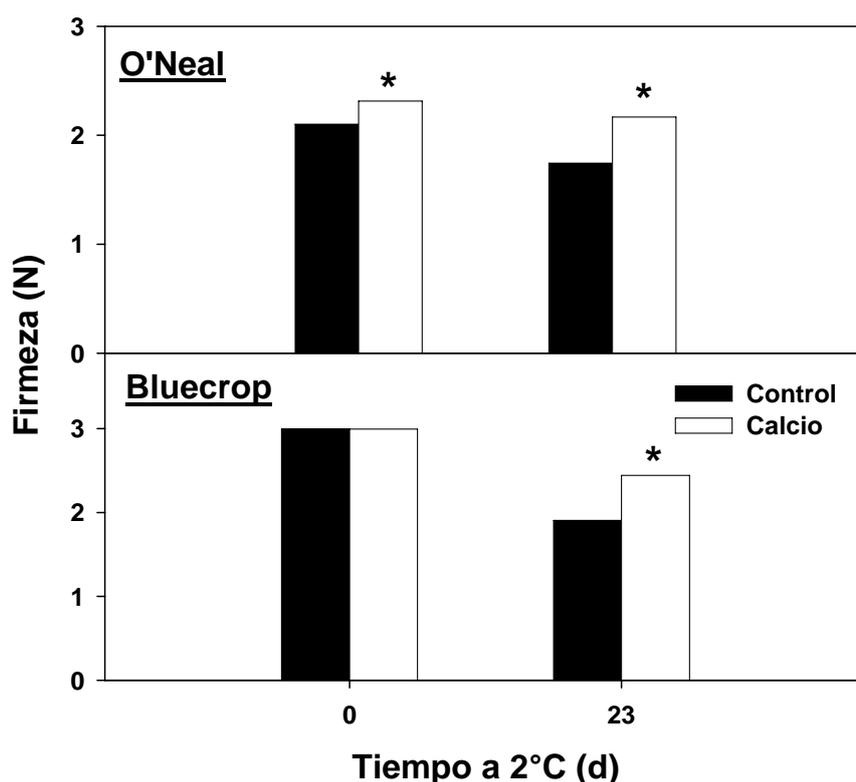
Los experimentos se realizaron de acuerdo a un diseño factorial. Los datos se analizaron por medio de ANOVA y las medias se compararon con un test de Fisher a un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ .

## **5. Resultados y discusión**



## 5.1. Firmeza

La firmeza es un atributo de calidad importante en arándano. El ablandamiento excesivo es una de las causas más importantes del deterioro poscosecha, disminuyendo la calidad y la posibilidad de venta para consumo en fresco (Brummell y Hapster, 2001). El ablandamiento de los frutos está, al menos en parte, asociado con la degradación de los polímeros que forman la pared celular (celulosa, hemicelulosa y pectinas), (Vicente *et al.*, 2007c). Las pectinas son particularmente abundantes en las paredes celulares de frutos (Carpita y McCann, 2000). Las mismas se encuentran asociadas por medio de puentes de calcio y se considera que esta organización supra-molecular es uno de los contribuyentes a la rigidez de las paredes. En ese sentido, se consideró que la fertilización cálcica podría permitir reducir el ablandamiento poscosecha de arándano. La **Figura 7** muestra la firmeza de frutos de arándano control y fertilizados con calcio a la cosecha y luego del almacenamiento refrigerado por 23 días a 2°C en las variedades O' Neal y Bluecrop.



**Figura 7:** Efecto de la fertilización cálcica sobre la firmeza en frutos de arándano cv. O' Neal y Bluecrop almacenados por 0 y 23 días a 2°C. El asterisco muestra diferencias de los controles ( $P \leq 0,05$ ).

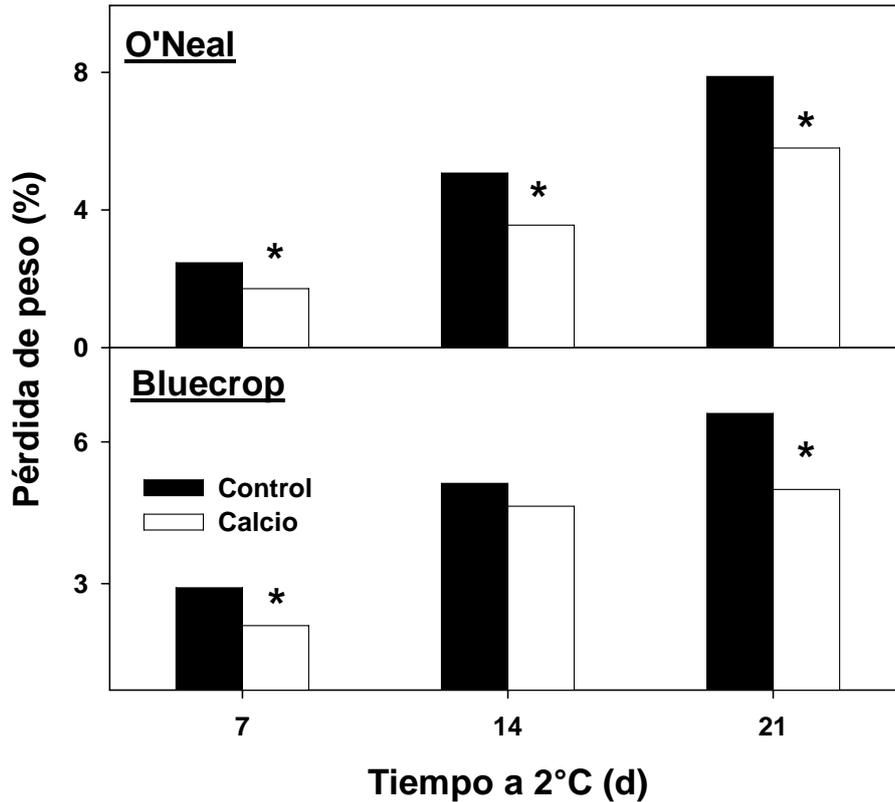
En la variedad O'Neal, ya al momento de la cosecha los frutos provenientes de plantas sometidas al tratamiento de fertilización cálcica presentaron una firmeza superior que los controles (**Figura 7**). Estas diferencias se acentuaron durante el almacenamiento refrigerado, ya que los frutos controles mostraron una velocidad de ablandamiento 100% superior a la de los frutos tratados con calcio. Finalizado el almacenamiento, los frutos tratados presentaron una firmeza 23% superior que los controles. En la variedad Bluecrop los valores iniciales de firmeza fueron superiores a los de O'Neal. De todos modos, no es posible concluir que esto se deba a una diferencia varietal, ya que los valores de concentración de pigmentos en fruto sugieren que el estado de maduración de cosecha para esta variedad fue algo menor (**Tablas 7 y 8**). Con relación a los tratamientos con calcio, no se observaron diferencias en firmeza al momento de la cosecha. De todos modos, la tasa de ablandamiento poscosecha a 2°C fue marcadamente superior en los frutos controles (0,05 N por día) respecto a los tratados con calcio (0,027 N por día). Existen trabajos previos que muestran que la fertilización cálcica permite en ciertos casos reducir el ablandamiento poscosecha y alteraciones fisiológicas asociadas con la deficiencia de este nutriente (Raese *et al.*, 1999; Saure, 2005). La inmersión de los frutos en soluciones de CaCl<sub>2</sub> 1% (m/v), fue efectiva para controlar enfermedades y mantener la firmeza en frambuesa (Montealegre y Valdés, 1993) y arándano (Hanson *et al.*, 1993). Lara *et al.*, (2004), también hicieron aplicaciones cálcicas en frutillas y observaron que el efecto de los tratamientos fue positivo sobre la firmeza, la integridad de la pared celular y la vida poscosecha de los frutos. De todos modos, en la literatura, varios trabajos han descrito situaciones en las que las aplicaciones de calcio no fueron efectivas (Peryea y Neilsen, 2006; Erincik *et al.*, 1998). Lanauskas *et al.*, (2006) tampoco encontraron efectos positivos en la firmeza, pérdida de peso y resistencia al ataque de patógenos de frutillas por aplicación de nitrato de calcio. Las bases de estas divergencias podrían asociarse con diferentes factores. Así, si bien en nuestro estudio el nivel de calcio en el suelo era moderado, y la fertilización permitió aumentarlo significativamente (**Tabla 6**), **la falta de deficiencias en otras situaciones podría redundar en una ausencia de respuesta**. Resulta importante mencionar que se ha observado en algunos casos la aparición de síntomas de deficiencia aún en suelos bien provistos de calcio. Esto podría explicarse debido a **problemas en la traslocación del elemento que es poco móvil** (Saure, 2005). Debido a que el calcio se moviliza principalmente por xilema, la transpiración juega un rol primario (Saure, 2005). Por tal motivo, en general los frutos son peores destinos que las hojas. En este escenario, independientemente de los tratamientos de aplicaciones de calcio en suelo que se realicen, el problema se debe más a aspectos vinculados con la traslocación eficiente y por lo tanto resulta probable que no existan las respuestas

esperadas. En muchos casos, las aplicaciones foliares tampoco logran los efectos deseados sobre la firmeza de los frutos. **Un motivo de esta falta de efecto podría ser la poca absorción del calcio por órganos no diseñados para tal fin, a diferencia de las raíces.** La absorción de calcio por algunos frutos asperjados fue menor a 1 microgramo por  $\text{cm}^2$  (Saure, 2005). En términos generales, la presencia de barreras impermeables como la cutícula, ceras, sin dudas redundarán en una menor capacidad de ingreso. Por otra parte, la capacidad de movimiento desde la epidermis hacia otras zonas del fruto debería ocurrir por zona apoplástica lo que resulta poco probable sobre todo en caso de existencia de sitios de unión disponibles para el catión. Schlegel y Schonherr (2002) describieron que la absorción no depende sólo de la permeabilidad de la cutícula sino también de la cantidad de solución que permanece en contacto con los frutos y de su concentración. Por otra parte, **el momento de aplicación parece ser crucial.** Como todas las plantas, el arándano tiene diferentes estados fenológicos que se repiten año tras año, cada uno de ellos se caracteriza por un acontecimiento en particular visible generalmente, como pueden ser la brotación, floración, elongación, etc. Además de los sucesos visibles, los estados fenológicos pueden asociarse con diferencias en la absorción de nutrientes. Dentro del proceso de desarrollo de los frutos existen divergencias sobre los cambios en la tasa de absorción de calcio (Saure, 2005). De todos modos, **en caso de procurarse la realización de fertilización cálcica sobre la parte aérea de las plantas durante la fructificación, esta debería iniciarse a partir de estados tempranos.** Con relación al **número de aplicaciones en general, se observa que los trabajos que muestran efectos positivos realizan múltiples aplicaciones.** En durazno, por ejemplo, las aplicaciones foliares de calcio permitieron reducir la incidencia de podredumbre morena (Elmer *et al.*, 2007), en este caso se realizaron 6 aplicaciones en forma semanal y durante todo el desarrollo del fruto. En el caso de la aplicación del calcio en el suelo en nuestro estudio se observó que la aplicación luego de la cosecha permitió mejorar la firmeza en la temporada siguiente. **Otro factor que podría influir en el efecto de las aplicaciones cálcicas sobre el ablandamiento de frutos es el grado de esterificación de las pectinas de la pared celular.** Las pectinas constituyen un grupo heterogéneo de compuestos caracterizados por ser ricos en ácido galacturónico (Carpita y McCann, 2000). El polímero más abundante es el homogalacturonano, formado por cadenas de ácido galacturónico asociado por enlaces  $\alpha$ -1,4 con un grado variable de polimerización (Brummell y Harpster, 2001). Los grupos carboxilo de los residuos de ácido galacturónico pueden encontrarse esterificados en diferente grado. Cuando las pectinas son depositadas durante los estados tempranos de desarrollo de frutos, estas se encuentran altamente esterificadas (Willats *et al.*, 2001). En la medida que los frutos avanzan en su desarrollo

su grado de esterificación disminuye. Son precisamente estos grupos carboxilos libres los que permiten la unión del calcio que asocia las cadenas de pectinas, formando una estructura llamada 'caja de huevos' y que podría aportar rigidez a la pared (Sams, 1999, Willats *et al.*, 2001). Mas allá de los cambios normalmente observados durante la maduración de frutos, resulta posible esperar diferencias en el grado de esterificación en distintas variedades, los que podrían contribuir también a explicar las divergencias observadas en la literatura. Por último, en arándano, si bien el pH al que se ajusta el suelo (el cultivo de arándano se maneja a un pH ácido) parecería ser favorable para reducir la inmovilización del calcio, por precipitación en forma de fosfato, también resulta probable que **la fertilización asociada a elevada concentración de amonio tenga un efecto de competencia con la absorción de calcio**. La nutrición con amonio en forma desbalanceada redujo el contenido de calcio en frutos, aún ante condiciones de alta disponibilidad de calcio (Lewis *et al.*, 1977; Marti y Mills, 1991). En tomate también se ha encontrado que la nutrición con  $\text{NH}_4^+$  deprime el nivel de calcio presente en el xilema (Kirkby, 1979). Esto podría contribuir también a que aún en suelos provistos en calcio y en condiciones en las que la inmovilización es menos probable por el pH, las plantas todavía respondan a aplicaciones exógenas de fertilizantes de naturaleza cálcica. De todos modos, estos aspectos requerirían la realización de más estudios para comprender en mayor detalle el fenómeno. Independientemente de este análisis sobre la potencial influencia de los factores mencionados en las respuestas a la fertilización cálcica, los resultados del presente trabajo mostraron que la aplicación de calcio resultó de utilidad para retrasar en forma significativa el ablandamiento poscosecha.

## **5.2. Pérdida de peso**

La pérdida de peso se debe por un lado, a la actividad respiratoria de los frutos con la consecuente reducción en los niveles de azúcares y/o ácidos orgánicos, o bien a un proceso físico de evaporación del agua como consecuencia de la diferencia de presión de vapor entre los frutos y la presión de vapor de saturación a la temperatura de almacenamiento. La **Figura 8** muestra el efecto de la aplicación de calcio en precosecha sobre la pérdida de peso de arándanos de las variedades O'Neal (panel superior) y Bluecrop (panel inferior) durante el almacenamiento a 2°C.



**Figura 8:** Efecto de la fertilización cálcica sobre la pérdida de peso en frutos de arándano cv. O' Neal y Bluecrop almacenados por 7, 14, y 21 días a 2°C. El asterisco muestra diferencias de los controles ( $P \leq 0,05$ ).

Los frutos tratados con calcio presentaron para ambas variedades una menor pérdida de peso que los controles. Este efecto podría estar asociado con diferentes factores. Los resultados hallados en firmeza (**Figura 7**) sugieren que la pared celular podría presentar una mayor integridad en los frutos tratados con calcio. El calcio aumenta la estabilidad de la pared celular, uniéndose a las pectinas desesterificadas y formando puentes de calcio. Si bien la pared celular es permeable al agua, esta aumenta la resistencia al flujo de agua hacia el exterior, dándole una mayor rigidez a los tejidos pudiendo así reducir el daño físico de los frutos. Por otra parte, existen trabajos que indican que el calcio juega un rol importante en la estabilización de las membranas celulares (Marschner, 1995; Rengel, 1992). Debido a que el calcio puede ser desplazado de sus sitios de unión en la membrana por otros cationes, la función de la misma puede ser seriamente afectada en condiciones de baja disponibilidad del elemento. El incremento en la concentración externa de calcio evita este desplazamiento (Lynch *et al.*, 1987; Lynch y Lauchli, 1988). La suplementación con sulfato de calcio en tomate mejoró marcadamente el crecimiento en condiciones de

estrés salino y evitó el incremento en la pérdida de electrolitos sugiriendo una mayor integridad de membranas (Tuna *et al.*, 2007).

En el presente trabajo, independientemente del efecto beneficioso que se observó en los frutos tratados con calcio, la pérdida de peso fue alta observándose en todos los casos síntomas de deshidratación. Por este motivo, y considerando la posibilidad de exportación marítima que se mencionó al comienzo, resulta necesario optimizar las condiciones de manejo para reducir estas pérdidas y con ellas el deterioro de los frutos. La pérdida de peso poscosecha puede atribuirse al consumo de reservas por respiración o bien a un proceso físico de pérdida de agua. Considerando que la tasa respiratoria media de arándano obtenida para las variedades estudiadas es de 60 mL kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> a 20°C (**Tablas 7 y 8**) y asumiendo un Q<sub>10</sub> (relación entre la actividad respiratoria a una temperatura dada/la tasa respiratoria a una temperatura de 10°C menor) de 3, podríamos estimar que la tasa de producción de CO<sub>2</sub> de los frutos en las condiciones de almacenamiento debería ser cercana a 7 mL kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. Por lo tanto, en 23 días de almacenamiento podría estimarse una pérdida de peso por respiración como CO<sub>2</sub> de 0,7%. Esto sugiere que en las condiciones en las que se almacenaron los frutos la disminución de peso se debería principalmente a la pérdida de agua. Los aspectos a considerar a fin de reducir este problema incluirían:

**1. Rápida refrigeración luego de la cosecha:** Este proceso constituye un modo importante de reducir la pérdida de peso, ya que por un lado reduce la respiración de los frutos y por otra parte la presión de vapor de saturación del aire disminuye exponencialmente con la temperatura. La temperatura óptima de almacenamiento de arándano debería ser de 0°C y con una humedad de 90-95% (Mitcham *et al.*, 2006).

**2. Utilizar cámaras con baja fluctuación térmica:** Las diferencias de temperatura durante el almacenamiento incrementan la pérdida de peso de los frutos por lo mencionado anteriormente. El control de temperatura de las cámaras resulta un aspecto importante y la variación no debería ser superior a 1°C.

**3. Ajustar la logística de distribución para evitar cortes en la cadena de frío:** En un contexto de exportación por vía marítima, el ajuste de la logística es crucial. Evitar tiempos de espera innecesarios y fluctuaciones térmicas permitirá mantener la calidad de la fruta por más tiempo.

**4. Utilizar equipos de refrigeración con evaporadores con mayor superficie:** En cámaras con evaporadores de pequeña superficie la diferencia de temperatura entre éste y la cámara debe ser elevada para permitir satisfacer los requerimientos de enfriamiento. Al entrar en contacto el aire de la cámara con la superficie del evaporador a menor temperatura se produce condensación de agua. Este proceso finalmente contribuye a reducir la humedad en el interior de la cámara.

**5. Utilizar envases con menores perforaciones u otras barreras que reduzcan la permeabilidad del vapor de agua:** Las bandejas comúnmente utilizadas para la comercialización de arándano poseen perforaciones. La reducción del área perforada para frutos a ser enviados en forma marítima podría reducir la pérdida de peso durante el almacenamiento al incrementar la resistencia al flujo del vapor de agua. Otra alternativa constituye la utilización de películas plásticas (polietileno, PVC entre otras) que cumplirían la misma función.

**6. Evitar el daño mecánico de los frutos y almacenar frutos del mayor tamaño posible:** El daño mecánico disminuye la resistencia al flujo de vapor de agua desde los frutos al eliminar o reducir la acción de barreras naturales que constituyen resistencias a este proceso como la cutícula, ceras, etc. Por otra parte, la selección de frutos con mayor tamaño (mayor relación superficie volumen) permite reducir la pérdida de peso durante el almacenamiento poscosecha. Así frutos con mayor tamaño serían menos susceptibles a la deshidratación.

### **5.3. Color superficial, acidez, pH, azúcares, actividad respiratoria y ataque de patógenos**

Si bien los tratamientos con calcio retrasaron el ablandamiento y la pérdida de peso, resultó de interés determinar que no se hubieran provocado modificaciones desfavorables en otros parámetros de la maduración. La acidez y el contenido de azúcares son muy importantes a la hora de determinar la aceptabilidad del consumo ya que son responsables directos del sabor. En el presente trabajo no se hallaron diferencias entre los frutos controles y tratados con calcio en los niveles de azúcares y acidez ni al momento de cosecha ni durante el almacenamiento. El ataque de patógenos tampoco fue influenciado por la fertilización cálcica (**Tablas 7 y 8**). Esto difiere con algunos trabajos previos en otras especies en las que los tratamientos con calcio resultaron de utilidad para reducir la incidencia de enfermedades (Elad y Kirshner,

1992). El color superficial azulado de arándano está dado por las antocianinas. Los resultados con relación al color superficial y antocianinas mostraron un incremento durante el almacenamiento, pero no se encontraron diferencias entre frutos controles y tratados con calcio (**Tablas 7 y 8**). Lo que se observó, es que en la variedad Bluecrop los valores iniciales de antocianinas a la cosecha fueron inferiores que en O'Neal. Esto sugiere que los frutos de la variedad Bluecrop se encontraban en un menor estado de madurez, lo que podría contribuir a explicar los mayores niveles de firmeza observados a la cosecha (**Figura 7**). Si bien, una mayor firmeza obtenida mediante el adelanto en la cosecha sería muy útil a la hora de intentar llegar con un mejor producto a los mercados distantes, resulta importante evitar que las cosechas tempranas se traduzcan en una menor calidad organoléptica de los frutos.

**Tabla 7:** Efecto de la fertilización cálcica sobre la luminosidad ( $L^*$ ), color superficial ( $a^*$ ,  $b^*$ ), acidez, pH, azúcares, ataque de patógenos, contenido de antocianinas y actividad respiratoria en frutos de arándano cv. O' Neal almacenados por 0 y 23 días a 2°C.

	<i>Tiempo a 2°C (d)</i>			
	0		23	
	<i>Control</i>	<i>Calcio</i>	<i>Control</i>	<i>Calcio</i>
<i>Luminosidad (<math>L^*</math>)</i>	32,04	30,15	28,31	28,67
<i>Color superficial (<math>a^*</math>)</i>	1,64	1,19	0,69	0,95
<i>Color superficial (<math>b^*</math>)</i>	-1,86	-3,07	-0,97	-1,79
<i>Acidez (%)</i>	0,49	0,41	0,26	0,23
<i>pH</i>	3,75	3,92	4,41	4,40
<i>Azúcares (<math>g\ kg^{-1}</math>)</i>	113	112	135	135
<i>Frutos atacados (%)</i>	0	0	14,5	13,6
<i>Antocianinas (<math>g\ kg^{-1}</math>)</i>	2,07	1,83	3,11	2,87
<i>Respirac. (<math>mL\ kg^{-1}\ h^{-1}</math>)</i>	56	59	68	62

En general se considera que la concentración de azúcares en arándanos aumenta hasta el final de la maduración, con lo que cosechas anticipadas, redundarían en una menor acumulación de estos compuestos (Mitcham *et al.*, 2006). De todos modos, en el presente trabajo se observó una concentración de azúcares similares en Bluecrop y O'Neal aún cuando la primera se cosechó con menores niveles de antocianinas. En la acidez sí se hallaron diferencias entre variedades. Así Bluecrop, que fue cosechada con madurez algo menor, presentó una acidez cercana a 0,8% mientras que O'Neal mostró valores menores, de alrededor de 0,4 %.

Si bien no está claro si estos valores de acidez hallados en arándano podrían afectar la aceptabilidad de los consumidores, trabajos realizados en otros 'berries' como frutilla, sugieren que la cosecha no debe realizarse con niveles de acidez superiores a 0,7%. Por lo tanto, aunque debería ser necesario realizar paneles de análisis sensorial, los resultados sugieren que la cosecha anticipada no sería una práctica recomendable a

pesar de permitir una mayor firmeza ya que podría tener efectos indeseados sobre el sabor de los frutos. Este efecto en las variedades ensayadas no implicaría una menor acumulación de azúcares sino una mayor acidez de los frutos.

**Tabla 8:** Efecto de la fertilización cálcica sobre la luminosidad ( $L^*$ ), color superficial ( $a^*$ ,  $b^*$ ), acidez, pH, azúcares, ataque de patógenos, contenido de antocianinas y actividad respiratoria en frutos de arándano cv. Bluecrop almacenados por 0 y 23 días a  $2^\circ\text{C}$ .

	Tiempo a $2^\circ\text{C}$ (d)			
	0		23	
	Control	Calcio	Control	Calcio
Luminosidad ( $L^*$ )	37,00	37,92	33,99	33,19
Color superficial ( $a^*$ )	1,66	2,07	0,19	0,30
Color superficial ( $b^*$ )	-3,71	-3,86	-3,44	-2,93
Acidez (%)	0,83	0,81	0,71	0,72
pH	3,31	3,34	3,55	3,56
Azúcares ( $\text{g kg}^{-1}$ )	111	117	114	109
Frutos atacados (%)	0	0	13,9	13,1
Antocianinas ( $\text{g kg}^{-1}$ )	1,13	1,37	3,08	3,19
Respirac. ( $\text{mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ )	58,0	54,5	67,2	63,6

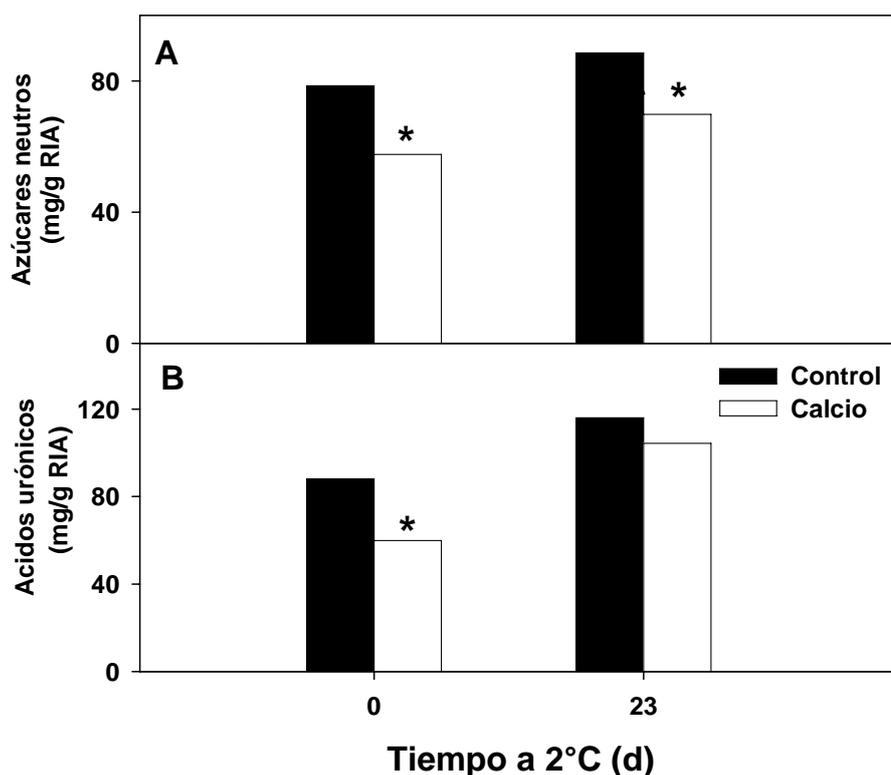
#### **5.4. Pectinas**

A fin de intentar avanzar en la comprensión del efecto de los tratamientos con calcio sobre el ablandamiento, se extrajeron las paredes celulares de los frutos al momento de la cosecha y finalizado el período de almacenamiento y luego se determinaron los cambios en la degradación de pectinas. Las paredes celulares de los frutos control y tratados con calcio para ambas variedades fueron extraídas con 2 solventes diferentes, en forma sucesiva, de manera de obtener una fracción que se denominó pectinas lábilmemente unidas y una segunda fracción denominada pectinas fuertemente asociadas a la pared.

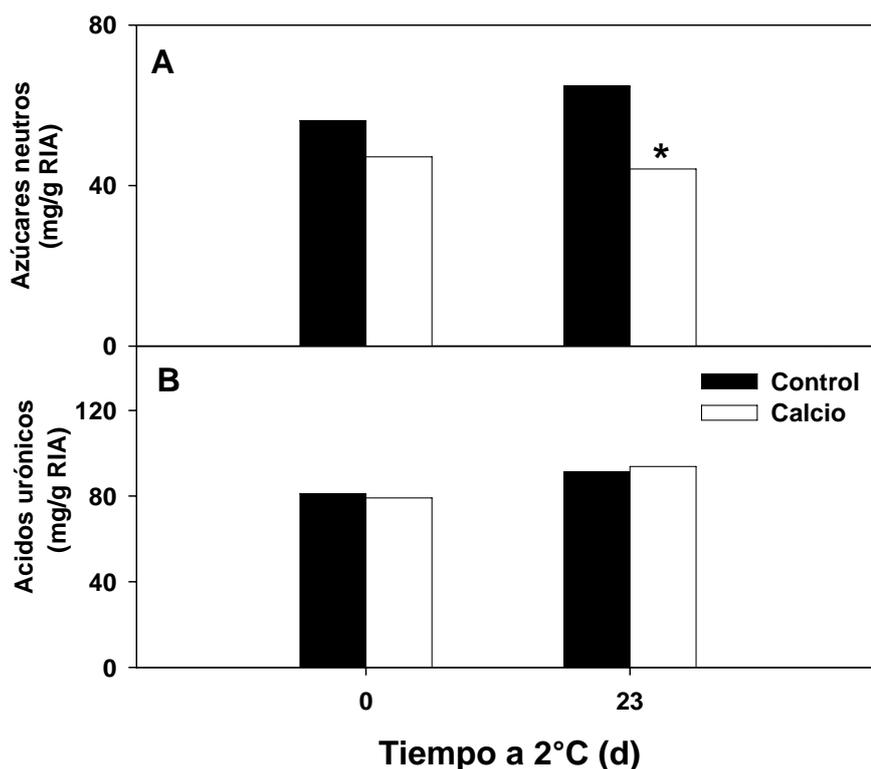
##### **5.4.1. Pectinas lábilmemente unidas**

Estas pectinas se definieron como aquellas capaces de ser extraídas de la pared celular con agua. En la **Figura 9** se observa que en la variedad O'Neal los niveles de ácidos urónicos, que reflejan a las pectinas lábilmemente unidas, fueron mayores en el control que en el tratamiento con calcio. Las pectinas son polímeros de ácido galacturónico. Los 2 componentes más abundantes son el homogalacturonano (HGA) y ramnogalacturonano I (RG I) (Williats *et al.*, 2001). En la medida que los procesos de maduración y ablandamiento ocurren, resulta esperable encontrar un aumento en las fracciones lábilmemente unidas y una reducción en los poliuronidos fuertemente asociados (Vicente *et al.*, 2007a). Esto se produce por hidrólisis de las pectinas, que se hacen

solubles en agua o en agentes quelantes si es que permanecen unidos a la pared por uniones iónicas a otras moléculas de pectina. En los azúcares neutros, se observó una mayor solubilización en los frutos controles tanto a la cosecha como luego del período de almacenamiento refrigerado. En la variedad Bluecrop si bien no se hallaron diferencias significativas en los valores de ácidos urónicos en ninguno de los días analizados, los frutos tratados con calcio también presentaron menor solubilización de azúcares neutros (**Figura 10**). Los resultados sugieren que el tratamiento con calcio redujo la solubilización de pectinas ricas en arabinosa, lo cual sugiere que éste es el principal azúcar neutro presente en estas fracciones de arándano (Vicente *et al.*, 2007b). La depolimerización de pectinas y la pérdida de galactosa y arabinosa en las cadenas laterales del RG I (Gross y Sams, 1984) incrementan la porosidad de las paredes, que inicialmente puede ser muy pequeña y limitar el acceso de las enzimas hidrolíticas a sus sustratos (Baron-Epel *et al.*, 1988).



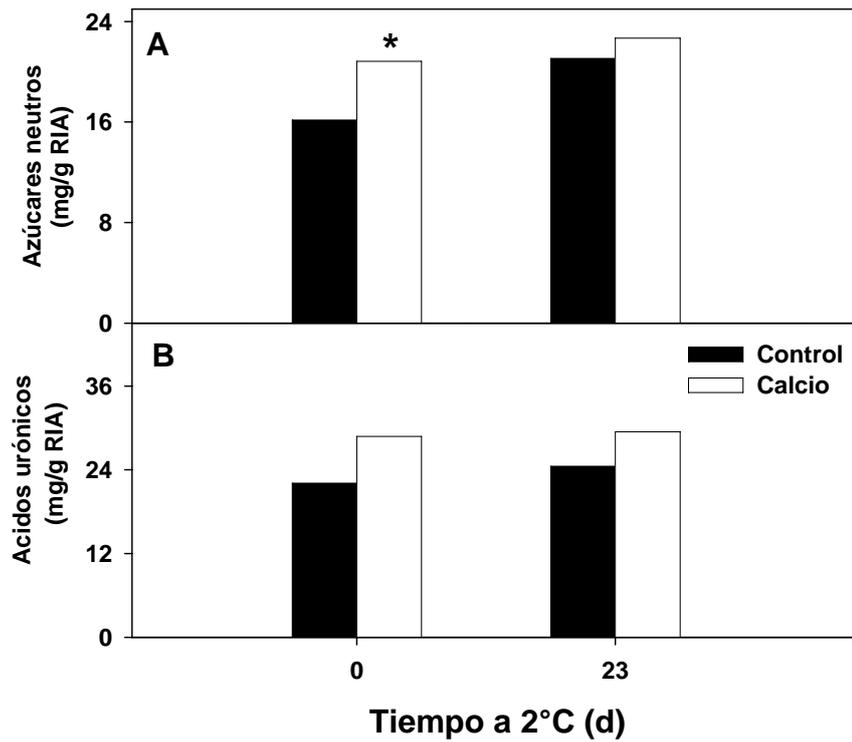
**Figura 9:** Efecto de la fertilización cálcica sobre el contenido de azúcares neutros (A) y pectinas (B) lábilmemente unidas en arándanos cv. O' Neal almacenados por 0 y 23 días a 2°C. El asterisco muestra diferencias de los controles ( $P \leq 0,05$ ).



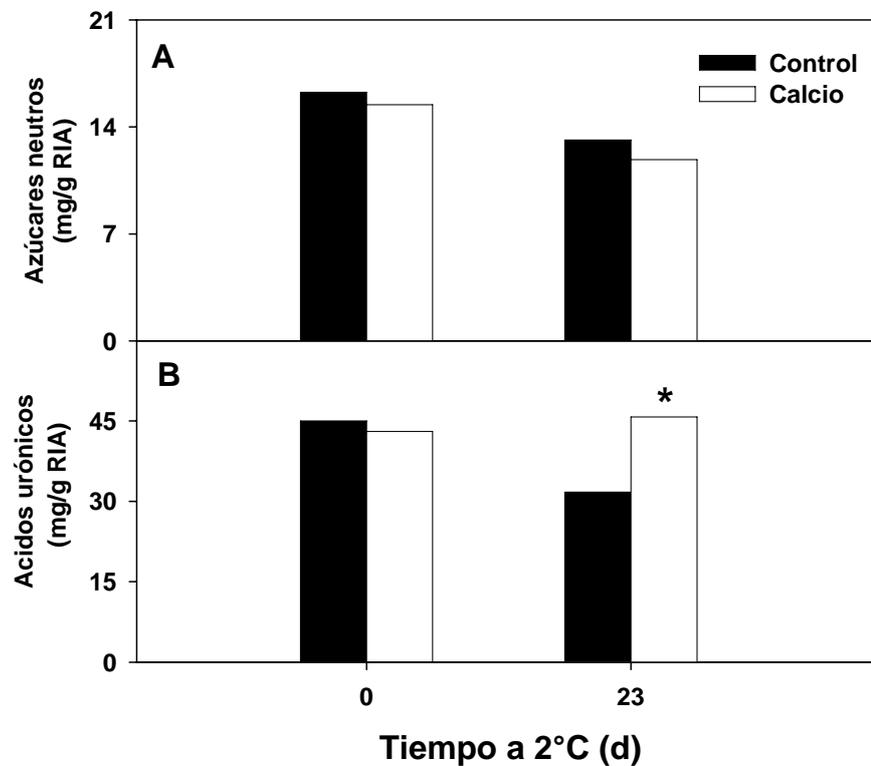
**Figura 10:** Efecto de la fertilización cálcica sobre el contenido de azúcares neutros (A) y pectinas (B) lábilmemente unidas en arándanos cv. Bluecrop almacenados por 0 y 23 días a 2°C. El asterisco muestra diferencias de los controles ( $P \leq 0,05$ ).

#### **5.4.2. Pectinas fuertemente unidas**

Cuando se analizaron las pectinas fuertemente asociadas a la pared celular (extraíbles con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), los frutos tratados mostraron una tendencia a presentar mayores niveles que los frutos control. Esto se observó en el contenido de azúcares neutros para O'Neal y en los ácidos urónicos para Bluecrop (**Figuras 11 y 12**). Por lo tanto, los resultados encontrados sugieren que el tratamiento con calcio permitió retrasar el proceso de solubilización de pectinas que ocurre comúnmente durante el ablandamiento de frutos. La formación de puentes de calcio podría aportar mayor rigidez a la pared (Jarvis, 1984). Esto además podría limitar el movimiento de proteínas en el apoplasto (Carpita y Gibeaut, 1993).



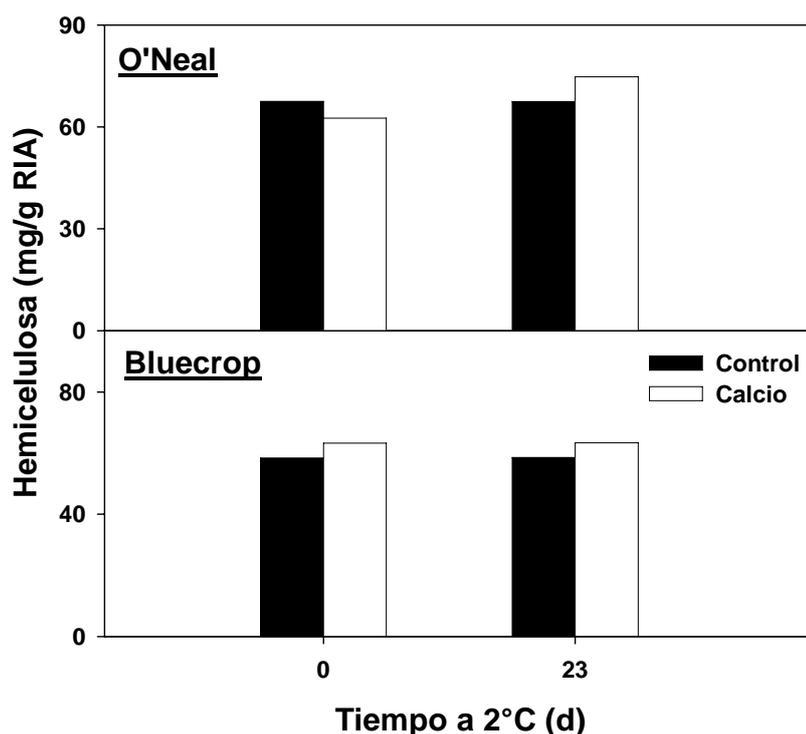
**Figura 11:** Efecto de la fertilización cálcica sobre el contenido de azúcares neutros (A) y pectinas (B) fuertemente unidas en arándanos cv. O'Neal almacenados por 0 y 23 d a 2°C. El asterisco muestra diferencias de los controles ( $P \leq 0,05$ ).



**Figura 12:** Efecto de la fertilización cálcica sobre el contenido de azúcares neutros (A) y pectinas (B) fuertemente unidas arándanos cv. Bluecrop almacenados por 0 y 23 d a 2°C. El asterisco muestra diferencias de los controles ( $P \leq 0,05$ ).

## 5.5. Hemicelulosa

La hemicelulosa constituye un grupo de glucanos que pueden unirse mediante puentes de hidrógeno a la celulosa formando una matriz celulosa-hemicelulosas, la cual se une a las pectinas mediante enlaces covalentes (Thompson y Fry, 2000). El xiloglucano es el polímero de entrecruzamiento más abundante en dicotiledóneas y parte de las monocotiledóneas. Otros polisacáridos no celulósicos presentes en menores cantidades incluyen a los gluco-mananos, mananos y galacto-gluco-mananos. La extracción de las hemicelulosas se realiza con NaOH ya que provoca la ruptura de puentes de hidrógeno con la celulosa y solubiliza los glicanos de entrecruzamiento (Brummell y Harpster, 2001). En nuestro estudio no se observaron diferencias en el contenido de hemicelulosas entre frutos control y tratados (**Figura 13**). Los resultados sugieren que durante la poscosecha los tratamientos con calcio provocaron cambios en la pared celular que se confinaron principalmente a nivel de las pectinas cuya solubilización fue significativamente retrasada.



**Figura 13:** Efecto de la fertilización cálcica sobre el contenido de hemicelulosa en frutos de arándano de las variedades O'Neal (A) y Bluecrop (B) almacenados por 0 y 23 días a 2°C. El asterisco muestra diferencias de los respectivos controles a un nivel de significancia de  $P \leq 0,05$ .

## **6. Conclusiones**



1. ***Los tratamientos de fertilización con calcio permitieron retrasar el ablandamiento y reducir la pérdida de peso durante el almacenamiento poscosecha de arándanos cv. O'Neal y Bluecrop.***
  
2. ***Los tratamientos con calcio no provocaron modificaciones significativas en el color superficial, antocianinas, susceptibilidad a patógenos, acidez, pH y contenido de azúcares.***
  
3. ***La fertilización cálcica permitió reducir la degradación de la pared celular de arándano en las dos variedades estudiadas en el presente trabajo.***
  
4. ***Los principales cambios se observaron en los compuestos de naturaleza péctica que muestran una menor solubilización durante el almacenamiento poscosecha como consecuencia de la fertilización cálcica.***
  
5. ***A fin de considerar envíos marítimos se deben optimizar las condiciones de manejo poscosecha para reducir aun más la deshidratación.***

## **7. Referencias**



- Agius F, Amaya I, Botella MA, Valpuesta, V. 2005. Functional analysis of homologous and heterologous promoters in strawberry fruits using transient expression. *J. Exp. Bot.* 56, 37–46.
- Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 90, 7915-7922.
- Anderson C, Kulczycki, Vergara A, Vera L. 2006. Cosecha de arándano. Buenas prácticas agrícolas. INTE. Estación Experimental Agropecuaria Concordia. En: <http://www.inta.gov.ar/concordia/actividad/eventos/Material%20Curso%202006.pdf>
- AOAC, 1980. *Methods of Analysis*, 13th ed., Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.
- Ayaz FA, Kadioglu A, Bertoft E, Acar C, Turna I. 2001. Effect of fruit maturation on sugar and organic acid composition in two blueberries (*Vaccinium arctostaphylos* and *V. myrtillus*) native to Turkey. *NZ J. Crop Hort. Sci.* 29, 137-141.
- Ban T, Kugishima M, Ogata T, Shiozaki S, Horiuchi S, Ueda H. 2007. Effect of ethephon (2-chloroethylphosphonic acid) on the fruit ripening characters of rabbiteye blueberry. *Scientia Horticulturae* 112, 278–281.
- Baron-Epel O, Gharyal PK, Schindler M. 1988. Pectins as mediators of wall porosity in soybean cells. *Planta* 175, 389-395.
- Blumenkrantz N, Asboe-Hansen G. 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal. Biochem.* 54, 484-489.
- Brett CT, Waldron KW. Physiology and biochemistry of plant cell walls. In: Black M, Charlwood B, editors. 1. *Topics in plant functional biology*. London, U.K. Chapman and Hall. 1996. 230 pp.
- Brummell DA, Harpster MH. 2001. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. *Plant Mol. Biol.* 47, 311–339.
- Cantu D, Vicente AR, Dewey M, Bennett AB, Labavitch JM, Powell ALT. 2008. The simultaneous suppression of tomato polygalacturonase and expansin reduces the susceptibility of ripe fruits to *Botrytis cinerea*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 105, 859–864.
- Cantú D, Vicente AR, Greve LC, Labavitch JM, Powell ALT. 2007. Genetic determinants of textural modifications in fruits and role of cell wall polysaccharides and defense proteins in the protection against pathogens. *Fresh Produce.* 1, 101-110.
- Carpita N, McCann M. The plant cell wall. In: *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, B. Buchanan, W. Gruissem and R. Jones, Eds. 2000, American Society of Plant Physiologists.

- Carpita NC, Gibeaut DM. 1993. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant J.* 3, 1–30.
- Chéour F, Willemot C, Arul J, Desjardins Y, Makhoul J, Charest PM, Gosselin A. 1990. Foliar application of calcium chloride delays postharvest ripening of strawberry. *J. Am Soc. Hort. Sci.* 115, 789–792.
- Chéour F, Willemot C, Arul J, Makhoul J, Desjardins Y. 1991. Postharvest response of two strawberry cultivars to foliar application of CaCl<sub>2</sub>. *Hortscience* 26, 1186–1188.
- Cozzi R, Ricordy R, Aglitti T, Gatta V, Perticone P, De Salvia R. 1997. Ascorbic acid and beta-carotene as modulators of oxidative damage. *Carcinogenesis* 18, 223-228.
- D'Amour J, Gosselin C, Arul J, Castaigne F, Willemot C. 1993. Gamma-radiation affects cell wall composition of strawberries. *J. Food Sci.* 58, 182-185.
- Demchak K, Harper JK, Greaser GL. 2005. Highbush Blueberry Production. College of Agricultural Sciences Agricultural Research and Cooperative Extension. In: <http://agalternatives.aers.psu.edu/>
- Dugo P, Mondillo L, Errante G, Zappia G, Dugo G. 2001. Identification of anthocyanins in berries by narrow-bore high-performance liquid chromatography with electrospray ionization detection *Journal of Agricultural and food chemistry* 49, 3987-3992.
- Durand M. 1999. Recuperación de las propiedades físico-químicas de un suelo afectado por sodio. Trabajo Final de Graduación. Facultad de Ciencias Agropecuarias UNER. 80 pp.
- Elad Y, Kirshner B. 1992. Calcium reduces *Botrytis cinerea* damage to plants of *Ruscus hypoglossum*. *Phytoparasitic* 20, 285–291.
- Elmer PAG, Spiers TM, Wood PN. 2007. Effects of pre-harvest foliar calcium sprays on fruit calcium levels and brown rot of peaches. *Crop Protection* 26, 11–18.
- Erincik O LV, Madden JC, Scheerens, Ellis MA. 1998. Evaluation of foliar applications of calcium chloride for control of *Botrytis* fruit rot on strawberry and effects on strawberry fruit quality. *Adv. Straw. Res.* 17, 7–17.
- Fabián A, Martínez C, Carlazara G. 2001. Cultivo del arándano en la zona del Río Uruguay. IDIA XXI. pp 105-111.
- FAOSTAT. 2009. En: <http://faostat.fao.org/default.aspx>
- Fettolini S, 1998. Suelos barreros en la provincia de Entre Ríos: alternativas para su recuperación. Trabajo Final de Graduación. Facultad de Ciencias Agropecuarias UNER. 75 pp.
- Godoy C. 2002. El Arándano: plantación y manejo del cultivo. En: <http://168.96.135.1/nmagic/notasespeciales/arandano.htm>

- Gross KC, Sams CE. 1984. Changes in cell wall neutral sugar composition during fruit ripening: a species survey. *Phytochem.* 23, 2457-2461.
- Hanson EJ, Beggs JL, Beaudry RM. 1993. Applying calcium chloride postharvest to improve blueberry firmness. *Hortscience* 28, 1033–1034.
- Hardenburg RE, Watada AE, Wang CY. 1986. *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Nursery Stocks.* Agriculture Handbook 66, US Department of Agriculture, Washington DC, USA.
- Heinonen IM, Meyer AS, Frankel EN. 1998. Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *J. Agric. Food Chem.* 46, 4107 -4112.
- Ismail AA, Kender WJ. 1969. Evidence of a respiratory climacteric in highbush and lowbush blueberry fruit. *HortScience* 4, 342-344.
- Jackson ED, Sanford KA, Lawrence RA, McRae KB, Stara R. 1999. Lowbush blueberry quality changes in response to prepacking delays and holding temperatures. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 117–126.
- Jarvis MC. 1984. Structure and properties of pectin gels in plant cell walls. *Plant Cell Envir.* 7, 153-164.
- Kader AA. 2002. Postharvest biology and technology: an overview. In: Kader AA (ed) *Postharvest Technology of Horticultural Crops*, University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Publication 3311, California, USA, pp 39-47.
- Kim HK, Song YS, Yam KL. 1995. Influence of modified atmosphere on quality attributes of blueberry. *Food Biotechnol.* 4, 113-116.
- Kirkby EA. 1979. Maximizing calcium uptake by plants. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 10, 89–113.
- Kron KA, Powell EA, Luteyn JE. 2002. Phylogenetic relationships within the blueberry tribe (*Vaccinieae*, *Ericaceae*) based on sequence data from matK and nuclear ribosomal ITS regions, with comments on the placement of *Satyria*. *Am. J. Bot.* 89, 327-336.
- Lara I, García P, Vendrell M. 2004. Modifications in cell wall composition after cold storage of calcium-treated strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 34, 331-339.
- Lewis TL, Martin D, Cerny J, Ratkowsky DA. 1977. The effects of increasing the supply of nitrogen, phosphorus, calcium and potassium to the roots of Merton Worcester apple trees on leaf and fruit composition and on the incidence of bitter pit at harvest. *J. Hort. Sci.* 52, 409–419.
- Lipe JA. 1978. Ethylene in fruits of blackberry and rabbiteye blueberry. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 103, 76-77.

- Lynch J, Cramer GR, Lauchli A. 1987. Salinity reduces membrane associated calcium in corn root protoplasts. *Plant Physiol.* 83, 390–394.
- Lynch J, Lauchli A. 1988. Salinity affects intracellular calcium in corn root protoplasts. *Plant Physiol.* 87, 351–356.
- Marschner H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press, London.
- Marti, HR, Mills HA. 1991. Calcium uptake and concentration in bell pepper plants as influenced by nitrogen form and stages of development. *J. Plant Nutr.* 14, 1177–1185.
- Meydani M. 2001. Nutrition Interventions in Aging and Age-Associated Disease. *Ann. NY Acad. Sci.* 928, 226-235.
- Mitcham EJ, Crisosto CH, Kader AA. 2006. *Bushberry: blackberry, blueberry, cranberry, raspberry: Recommendations for maintaining postharvest quality*. Department of Pomology, University of California, Davis, California, USA, In: <http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Fruit/berry.shtml>
- Mitchell FG. 1992. Cooling horticultural commodities. The need for cooling. In: Kader AA (ed) *Postharvest Technology of Horticultural Crops*, University of California, Publication 3311, Oakland, California, USA, pp 53-56.
- Montealegre JR, Valdés JM. 1993. Efecto de aplicaciones de calcio en precosecha sobre la susceptibilidad de frutos de frambuesa a *Botrytis cinerea*. *Fitopatol.* 2, 93–98.
- Nunes MCN, Brecht JK, Morais AMMB, Sargent SA. 1995. Physical and chemical quality characteristics of strawberries after storage are reduced by a short delay to cooling. *Postharvest Biol. Technol.* 6, 17-28.
- Peryea FJ, Neilsen GH. 2006. Effect of very high calcium sprays just before harvest on apple tree fruit firmness and calcium concentration. *Acta Hort.* 721, 199-206.
- Pescie MA, Lopez CG. Inducción floral en arándano alto del sur (*Vaccinium corymbosum*) var. O'Neal. *RIA.* 36, 97-107.
- Poovaiah BW. 1986. Role of calcium in prolonging storage life of fruits and vegetables. *Food Technol.* 40, 86–89.
- Raese JT, Drake SR, Staiff DC. 1999. Calcium sprays, time of harvest and duration in cool storage affects fruit quality of “d’ Anjou” pears in a critical year. *J. Plant Nutr.* 22, 1921–1929.
- Rengel Z 1992. The role of calcium in salt toxicity. *Plant Cell Environ.* 15, 625–632.
- SAGPYA 2007a. Secretaría de Agricultura, Ganadería Pesca y Alimentos. Res:201/2007.

- SAGPYA 2007b. Arándano. Newsletter. Secretaria de Agricultura ganadería pesca y alimentación. En: <http://www.e-campo.com/?event=news.print&id=18D17735-188B-7C0F-F2795B68101E66CF&>
- SAGPYA 2007c. Dirección Nacional de Alimentos. Informe de coyuntura mensual. Arándano. En: [http://www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/frutas/Informes\\_mensuales/](http://www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/frutas/Informes_mensuales/)
- SAGPYA 2008. Gacetilla Informativa del Sector Agroalimentario Nro. 44 Tema: Perfil de Arándanos. En: [www.sagpya.mecon.gov.ar/dimeagro](http://www.sagpya.mecon.gov.ar/dimeagro)
- Salentijn EMJ, Aharoni A, Schaart JG, Boone MJ, Krens FA. 2003. Differential gene expression analysis of strawberry cultivars that differ in fruit-firmness. *Physiol. Plantarum* 18, 571–578.
- Salunkhe DK, Desai BB. 1984. *Postharvest Biotechnology of Fruits (Volume I)*. CRC Press Inc, Boca Raton, Florida, USA.
- Sams CE. 1999. Preharvest factors affecting postharvest texture. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 249–254.
- Satué-Gracia MT, Heinonen M, Frankel EN. 1997. Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome systems. *J. Agric. Food Chem.* 45, 3362-3367.
- Saure MC. 2005. Calcium translocation to fleshy fruit: its mechanism and endogenous control. *Scientia Horticulturae* 105, 65–89.
- Schlegel TK, Schönherr J. 2002. Selective permeability of cuticles over stomata and trichomes to calcium chloride. *Acta Hort.* 549, 91-96.
- Sexton R, Palmer JM, Whyte N, Littlejohns S. 1997. Cellulase, fruit softening and abscission in red raspberry *Rubus idaeus* L. cv Glen Clova. *Ann. Bot.* 80, 371-376.
- Shackel KA, Greve C, Labavitch JM, Ahmadi H. 1991. Cell turgor changes associated with ripening in tomato pericarp tissue. *Plant Physiol.* 97, 814–816.
- Somerville S, Somerville C, Vorwerk S. 2004. The role of plant cell wall polysaccharide composition in disease resistance. *Trends Plant Sci.* 9, 203-209.
- Swietlik D, Faust M. 1984. Foliar nutrition of fruit crops. *Hort. Rev.* 6, 287–356.
- Thompson JE, Fry SC. 2000. Evidence for covalent linkage between xyloglucan and acidic pectins in suspension-cultured rose cells. *Planta* 211, 275-286.
- Tuna AL, Kaya C, Ashraf M, Altunlu H, Yokas I, Yagmur B. 2007. The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stress. *Env. Exp. Bot.* 59, 173–178.
- USDA Nutrition Database. 2009. En: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>

- Vicente AR, Ortugno C, Powell ALT, Greve CL, Labavitch JM. 2007a. Temporal sequence of cell wall disassembly events in developing fruits. 1. Analysis of raspberry (*Rubus idaeus*). J. Agric. Food Chem. 55, 4119-4124.
- Vicente AR, Ortugno C, Rosli H, Powell ALT, Greve CL, Labavitch JM. 2007b. Temporal sequence of cell wall disassembly events in developing fruits. 2. Analysis of blueberry (*Vaccinium* species). J. Agric. Food Chem. 55, 4125-4130.
- Vicente AR, Saladié M, Rose JKC, Labavitch JM. 2007c The linkage between cell wall metabolism and fruit softening: looking to the future. J. Sci. Food Agric. 87, 1435-1448.
- Vicente AR, Sozzi GO. 2008. Ripening and postharvest storage of 'soft fruits'. Global Science Books (GSB), London, UK. Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology. Actas del 4º Simposio Internacional y 2º Congreso Latinoamericano de Arándanos y Berries. Buenos Aires. Argentina.
- Vidal I. 2003. Fertirriego de berries. En: 2º Seminario Internacional de Fertirriego. SQM. Chile. Hotel Hyatt. Regency Santiago, Chile, 5-7
- Waldron KW, Parker ML, Smith AC. 2003. Plant cell walls and food quality. Compr. Rev. Food Sci. Saf. 2, 101-119.
- Wang H, Cao G, Prior RL. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. J. Agric. Food Chem. 44, 701-705.
- Watkins CB, Manzano-Mendez JE, Nock JF, Zhang JJ, Maloney KE. 1999. Cultivar variation in response of strawberry fruit to high carbon dioxide treatments. J. Sci. Food Agric. 79, 886-890.
- Willats WGT, McCartney L, Mackie W and Knox JP. 2001. Pectin: cell biology and prospects for functional analysis. Plant Mol. Biol. 47, 9-27.
- Wilson M, Zino L, Cerana J, Boschetti N y Quintero C. 2004. Efecto del agregado de yeso sobre las características físicas y químicas de un suelo degradado por el uso arrocero. Actas del XIX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Paraná. Argentina.
- Wójcik P, Lewandowski L. 2003. Effect of calcium and boron sprays on yield and quality of "Elsanta" strawberry. J. Plant Nutr. 26, 671-682.
- Wu X, Gu L, Holden J, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Beecher G, Prior RL. 2004. Development of a database for total antioxidant capacity in foods: a preliminary study. J. Food Comp. Anal. 17, 407-422.
- Zadernowski R, Naczek M, Nesterowicz J. 2005. Phenolic acid profiles in some small berries. J. Agric. Food Chem. 53, 2118 - 2124.