



Universidad Nacional de La Plata

Facultad de Ciencias Exactas

Trabajo final de la carrera de Licenciatura en Ciencia y Tecnología de los  
Alimentos

---

**“ROL DE BRASINOESTEROIDES EN LA POSTCOSECHA  
DE ZUCCHINI Y BRÓCOLI”**

---

**ALUMNO: Ramiro Sánchez**

Director: Juan Facundo Massolo

Co-director: María José Zaro

**Año 2020**

*Este Trabajo Final de Grado para obtener el título de “Licenciado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos” de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata, fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), bajo la dirección del Dr. Juan Facundo Massolo y la Co-dirección de la Dra. María José Zaro.*

## **AGRADECIMIENTOS**

*Quiero expresar mi agradecimiento a todas las personas que han contribuido a que este trabajo final de grado salga adelante, entre ellos quisiera mencionar:*

*Al director de esta tesina, Dr. Juan Facundo Massolo, y co-directora, Dra. María José Zaro, por la dedicación y apoyo que han brindado a este trabajo y por el respeto a mis sugerencias e ideas, durante todo el proceso. Gracias por la confianza ofrecida desde que llegué al instituto. A Ariel Vicente, a quien en ocasiones consultamos. Agradezco también a los integrantes del grupo de vegetales del CIDCA, quienes me hicieron sentir cómodo y acompañado desde el primer día.*

*A la UNLP, por permitir mi formación académica, y al CIDCA por cederme un lugar para la realización de este trabajo final de grado.*

*Este trabajo es también fruto del apoyo que ofrecen las personas que nos estiman, sin el cual no tendríamos la fuerza y energía que nos anima a crecer como personas y como profesionales. Gracias a mis padres, Marta y Eduardo, quienes me dieron la posibilidad de estudiar y porque me enseñaron a vivir libremente y manejarme con respeto y responsabilidad, por su cariño, por su ejemplo.*

*A mis hermanos, Román y Manuel, y mi tía, Zuny, ellos estuvieron apoyándome en todo momento, sin ustedes este merito no lo hubiese conseguido. Gracias por todos los buenos momentos que pasamos en el proceso.*

*Agradecerle a mi novia, quien lloró y rió en cada momento junto a mí y fue capaz de contenerme incluso en los momentos más turbulentos. Ha sido una persona incondicional, mi soporte, mi mejor amiga, mi consejera, mi apoyo para seguir adelante y no bajar los brazos. Muchas gracias.*

*Gracias a mis amigos, tanto los conocidos en la facultad, como mis amigos de la infancia, que siempre me han prestado un gran apoyo moral y humano. Muchas veces tuvieron que lamentar mis ausencias durante estos años pero que, aun así, siguieron junto a mí.*

*A todos, muchas gracias.*

## ÍNDICE

1. RESUMEN .....	10
2. INTRODUCCIÓN.....	12
2.1 Rol de las frutas y hortalizas a nivel nutricional.....	12
2.2 Importancia económica de las hortalizas .....	12
2.2.1 Comercio a nivel mundial .....	12
2.2.2 Comercio en Argentina .....	13
2.2.3 Comercio en el Cinturón Hortícola de La Plata .....	13
2.3 Manejo postcosecha de hortalizas .....	14
2.3.1 Buenas prácticas agrícolas.....	14
2.3.2 Las pérdidas en el sector fruti-hortícola .....	15
2.4 Métodos de conservación y tratamientos postcosecha .....	16
2.4.1 Manipulación a campo tras la cosecha y almacenamiento .....	16
2.4.2 Tecnologías de manejo postcosecha.....	16
2.5 Hormonas vegetales y su uso en postcosecha .....	18
2.6 Brasinoesteroides.....	19
2.6.1 Generalidades de los brasinoesteroides.....	19
2.6.2 Biosíntesis de BRs.....	20
2.6.3 Formulaciones comerciales más conocidas de BRs.....	21
2.6.4 Efecto de BRs como tratamiento en pre- y postcosecha .....	22
2.7 Brócoli: origen, generalidades del cultivo y valor nutritivo .....	23
2.7.1 Descripción y clasificación botánica.....	23
2.7.2 Posición en el mercado e importancia comercial .....	24
2.7.3 Valor nutricional.....	24
2.7.4 Postcosecha de brócoli .....	24
2.7.5 Senescencia .....	25

2.8 Zucchini: generalidades del cultivo y valor nutritivo .....	26
2.8.1 Descripción y clasificación botánica .....	26
2.8.2 Origen y posición en el mercado .....	26
2.8.3 Valor nutricional.....	27
2.8.4 Postcosecha de zucchini .....	27
2.8.5 Daño por frío y su sintomatología .....	27
2.8.5.1 Tecnologías para reducir el daño por frío .....	28
3.1. Objetivo general.....	29
3.2 Objetivos específicos .....	29
4. MATERIALES Y MÉTODOS .....	30
4.1 Determinaciones analíticas en inflorescencias de brócoli .....	30
4.1.1 Material vegetal, tratamientos y almacenamiento.....	30
4.1.2 Índice de senescencia (IS).....	30
4.1.3 Color .....	31
4.1.4 Clorofilas y carotenoides .....	31
4.1.5 Pérdida de peso .....	31
4.1.6 Tasa respiratoria .....	32
4.1.7 Capacidad antioxidante contra ABTS <sup>•+</sup> .....	32
4.2 Determinaciones analíticas en zucchini.....	32
4.2.1 Material vegetal, tratamientos y almacenamiento.....	32
4.2.2 Índice de daño por frío (IDF) .....	33
4.2.3 Pérdida de electrolitos .....	33
4.2.4 Sólidos solubles (SS) .....	34
4.2.5 Compuestos fenólicos.....	34
4.2.6 Metabolitos y enzimas de estrés oxidativo.....	35
4.2.6.1 Malonaldehído (MDA) .....	35

4.2.6.2 Actividad polifenol oxidasa (PPO).....	35
4.2.7 Color, pérdida de peso, tasa respiratoria, y antioxidantes contra ABTS <sup>•+</sup> .....	36
4.3 Análisis estadístico .....	36
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	37
5.1 Rol del 24-epibrasinólido y de su inhibidor de síntesis (brasinazol) en inflorescencias de brócoli almacenadas a 4 °C.....	37
5.1.1 Índice de senescencia (IS).....	37
5.1.2 Color .....	38
5.1.3 Clorofilas .....	40
5.1.4 Carotenoides y pérdida de peso.....	40
5.1.5 Tasa respiratoria (TR).....	42
5.1.6 Capacidad antioxidante contra ABTS <sup>•+</sup> .....	42
5.2 Efecto del 24-epibrasinólido en frutos de zucchini almacenados a 4 °C .....	43
5.2.1 Índice de daño por frío (DF) .....	43
5.2.2 Color .....	45
5.2.3 Pérdida de peso y de electrolitos .....	46
5.2.4 Tasa respiratoria y sólidos solubles .....	47
5.2.5 Capacidad antioxidante contra ABTS <sup>•+</sup> y compuestos fenólicos .....	48
5.2.6 Malonaldehído (MDA) y polifenoloxidasa (PPO) .....	50
6. CONCLUSIONES .....	54
7. REFERENCIAS .....	55

## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1.** *Clasificación botánica del brócoli.*

**Tabla 2.** *Clasificación botánica del zucchini.*

**Tabla 3.** *Contenido de carotenoides y pérdida de peso en brócoli tratado con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-5}$  M (B5) o  $10^{-7}$  M (B7), control (C), y tratado con brasinazol en concentraciones de  $10^{-7}$  M (I7) o  $10^{-5}$  M (I5), almacenados por 0, 12 y 26 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 3 días (“+3”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .*

**Tabla 4.** *Tasa respiratoria y sólidos solubles en zuchinis control (C) y tratados con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-7}$  M (B7) o  $10^{-5}$  M (B5), almacenados por 0, 11 y 18 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días (“+2”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .*

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1.** Estructura química de los brasinoesteroides naturales.

**Figura 2.** Estructura molecular de los brasinoesteroides más bioactivos.

**Figura 3.** Ruta simplificada de la biosíntesis de brasinoesteroides.

**Figura 4.** Ruta biosintética de brasinoesteroides.

**Figura 5.** Productos comerciales de formulaciones conteniendo brasinoesteroides.

**Figura 6. A)** Aspecto de brócoli sometido a tratamientos con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-5}$  M (B5) y  $10^{-7}$  M (B7), control (C), y brasinazol en concentraciones de  $10^{-7}$  M (I7) y  $10^{-5}$  M (I5), almacenados por 26 días a 4 °C. **B)** Índice de senescencia en brócoli tratado con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-5}$  M (B5) y  $10^{-7}$  M (B7), control (C), y brasinazol en concentraciones de  $10^{-7}$  M (I7) y  $10^{-5}$  M (I5), almacenados por 0, 12 y 26 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 3 días (“+3”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

**Figura 7. A)** Luminosidad ( $L^*$ ) y **B)** Tono (Hue) de brócoli tratado con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-5}$  M (B5) y  $10^{-7}$  M (B7), control (C), y brasinazol en concentraciones de  $10^{-7}$  M (I7) y  $10^{-5}$  M (I5), almacenados por 0, 12 y 26 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 3 días (“+3”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

**Figura 8.** Contenido de clorofila total de brócoli tratado con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-5}$  M (B5) y  $10^{-7}$  M (B7), control (C), y brasinazol en concentraciones de  $10^{-7}$  M (I7) y  $10^{-5}$  M (I5), almacenados por 0, 12 y 26 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 3 días (“+3”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

**Figura 9.** Tasa respiratoria de brócoli tratado con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-5}$  M (B5) y  $10^{-7}$  M (B7), control (C), y brasinazol en concentraciones de  $10^{-7}$  M (I7) y  $10^{-5}$  M (I5), almacenados por 0, 12 y 26 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 3 días (“+3”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

**Figura 10.** Capacidad antioxidante contra ABTS<sup>•+</sup> en brócoli tratado con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-5}$  M (B5) o  $10^{-7}$  M (B7), control (C), y tratado con brasinazol en concentraciones de  $10^{-7}$  M (I7) o  $10^{-5}$  M (I5), almacenados por 0, 12 y 26 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 3 días (“+3”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

**Figura 11. A)** Aspecto de zucchini control (C) y tratados con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-7}$  M (B7) y  $10^{-5}$  M (B5), almacenados por 18 días a 4 °C. **B)** Índice de daño por frío de zucchinis control (C) y tratados con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-7}$  M (B7) y  $10^{-5}$  M (B5), almacenados por 0, 11 y 18 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días (“+2”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P<0,05$ .

**Figura 12. A)** Luminosidad ( $L^*$ ) y **B)** Tono (Hue) en zucchinis control (C) y tratados con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-7}$  M (B7) o  $10^{-5}$  M (B5), almacenados por 0, 11 y 18 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días (“+2”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P<0,05$ .

**Figura 13. A)** Pérdida de peso y **B)** Electrolitos en zucchinis control (C) y tratados con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-7}$  M (B7) o  $10^{-5}$  M (B5), almacenados por 0, 11 y 18 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días (“+2”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P<0,05$ .

**Figura 14. A)** Capacidad antioxidante contra  $ABTS^{*+}$  y **B)** Compuestos fenólicos, en zucchinis control (C) y tratados con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-7}$  M (B7) o  $10^{-5}$  M (B5), almacenados por 0, 11 y 18 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días (“+2”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P<0,05$ .

**Figura 15. A)** Contenido de Malonaldehído (MDA) y **B)** Actividad polifenoloxidasas (PPO), en zucchinis control (C) y tratados con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-7}$  M (B7) o  $10^{-5}$  M (B5), almacenados por 0, 11 y 18 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días (“+2”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P<0,05$ .

## 1. RESUMEN

Los brasinoesteroides (BRs) son fitohormonas sintetizadas en diferentes órganos vegetales que poseen diferentes funciones. Entre las más importantes se destacan el crecimiento y expansión celular, la aceleración de la senescencia y en segundo plano la respuesta contra eventos de estrés biótico o abiótico. En las últimas décadas ha cobrado importancia la aplicación exógena de formulaciones comerciales de BRs en precosecha, principalmente para aumentar el rendimiento de los cultivos y en menor medida en postcosecha de frutas y hortalizas. El brócoli es una hortaliza de gran importancia comercial debido principalmente a su aporte nutricional. Su vida postcosecha se ve afectada por el amarilleamiento, pérdida de turgencia y ataque fúngico. Dado que a la fecha no hay estudios sobre la temática, el objetivo de la primera parte del presente trabajo fue estudiar el efecto en postcosecha de un BR y de su inhibidor (I) sobre la senescencia de estas inflorescencias. Para ello, se asperjaron brócolis con el BR '24-epibrasinólido' en concentraciones de  $10^{-7}$  y  $10^{-5}$  M (B7 y B5 respectivamente), con agua como grupo control (C) y con un inhibidor de brasinoesteroides ('brasinazol') en concentraciones de  $10^{-7}$  y  $10^{-5}$  M (I7 e I5, respectivamente). Las inflorescencias se almacenaron a 4 °C durante 21 d con traslados posteriores de 3 d a 20 °C como condición de abuso térmico. A distintos tiempos se evaluó el índice de senescencia, color, pigmentos, pérdida de peso, tasa respiratoria y contenido de antioxidantes. Como era de esperar el '24-epibrasinólido' aceleró el envejecimiento de los tejidos en detrimento de la calidad de esta hortaliza. De modo contrario, aunque los resultados encontrados fueron moderados se observó un efecto beneficioso de su inhibidor (particularmente para I7), reflejado en el retraso de la senescencia del brócoli y en la conservación de mayores niveles de antioxidantes respecto del control. Si bien se infiere que la senescencia de esta hortaliza sería en parte dependiente del 24-epibrasinólido (EBR), futuros ensayos son necesarios a fin de justificar el empleo de brasinazol en postcosecha de brócoli. El objetivo de la segunda parte del trabajo, fue evaluar la influencia del EBR en el retraso de la manifestación de estrés por frío como el zucchini. Para desarrollar el estudio, una partida de zuchinis se dividió en 3 lotes, a uno de ellos se lo asperjó con agua (control, C), y a los dos restantes con EBR en similares concentraciones que para zucchini (B7 y B5). Los frutos se almacenaron a 4 °C durante 18 días con traslados posteriores de 2 días a 20 °C. A

distintos tiempos se evaluó el índice de daño por frío (DF), se llevaron a cabo determinaciones de calidad mencionadas en la primera parte sumado a sólidos solubles, compuestos fenólicos y mediciones vinculadas a estrés oxidativo, como la liberación de electrolitos, acumulación de malonaldehído (MDA) y determinación de la actividad polifenoloxidasas. Los resultados mostraron que el EBR retrasó significativamente el daño por frío con respecto al grupo control. Particularmente, el tratamiento B7 mostró los mejores resultados debido a una conservación del aspecto de los frutos y de la integridad de los tejidos, un mayor nivel de antioxidantes y la presencia de un menor contenido de metabolitos de estrés oxidativo (electrolitos y MDA) así como una menor actividad de enzimas asociadas a este tipo de daño como la polifenoloxidasas. El empleo de EBR en la postcosecha de zapallito zucchini podría considerarse a futuro como una herramienta de utilidad para almacenar estos frutos por más tiempo en condiciones en las que normalmente sufriría daño por frío exacerbado.

**Palabras claves:** Brasinoesteroides, inhibidor, brócoli, senescencia, zucchini, daño por frío, postcosecha.

## **2. INTRODUCCIÓN**

### **2.1 Rol de las frutas y hortalizas a nivel nutricional**

Las frutas y hortalizas (F. y H.) son una fuente rica en vitaminas, minerales, fibra y otros fitoquímicos como compuestos fenólicos, carotenoides, fitoesteroles y glucosinolatos, los cuales son beneficiosos para la salud. Una dieta equilibrada en F. y H. asegura una ingesta adecuada de los nutrientes esenciales requeridos por el organismo y previene enfermedades no transmisibles como diabetes, cardiopatías, accidentes cerebrovasculares y diferentes tipos de cáncer (OMS, 2019). Además, la evidencia sugiere que cuando los vegetales se consumen como parte de una dieta baja en grasas, azúcares y sodio, previenen el aumento de peso (FAO, 2017). A nivel mundial, aproximadamente 3,4 millones de muertes pueden atribuirse al bajo consumo de frutas y 1,8 millones a dietas reducidas en hortalizas (Forouzanfar y col. 2015). El Centro Internacional de Investigación sobre el Cáncer (CIIC), llegó a la conclusión de que la fracción prevenible de cáncer debido a la baja ingesta de F. y H. está en el rango de 5-12% y hasta 20-30% para el cáncer del tracto gastrointestinal en particular (OMS/FAO, 2003). Sin embargo a pesar del conocimiento colectivo de sus beneficios nutricionales y de la amplia promoción y variedad comercial se estima que a nivel mundial la ingesta de F. y H. se encuentra entre un 20 y un 50% por debajo del nivel mínimo recomendado de 400 gramos *per cápita* por día (OMS/FAO, 2003).

### **2.2 Importancia económica de las hortalizas**

#### **2.2.1 Comercio a nivel mundial**

La producción y el consumo de hortalizas se encuentran en pleno crecimiento en todo el mundo. El intercambio mundial de productos frutihortícolas se genera principalmente entre la Unión Europea (UE), NAFTA (Tratado de Libre Comercio de América del Norte) y Asia del Este (China y Japón) (Van Rijswick, 2018). Específicamente, la producción de hortalizas creció de 324 a 881 millones de toneladas desde 1980 a 2005, lo que representa una tasa anual de aumento promedio de 4,1%. Esto se debió principalmente al incremento de la producción de China, que representa casi el 50% de la producción mundial de hortalizas (FAO, 2010). A su vez, China es el mercado con mayor consumo anual de hortalizas con 378 millones de toneladas. Otros

países exportadores de hortalizas de importancia son Estados Unidos, Alemania, Holanda y Japón. En tanto Argentina se ubicó en el puesto 41 ([WITS, 2018](#)).

### **2.2.2 Comercio en Argentina**

Argentina cuenta con una diversidad geográfica y climática que le permite una producción hortícola muy variada y de gran calidad. Buenos Aires es la principal provincia productora. La mayor parte de esta producción es destinada al consumo interno. Además, el país cuenta con estándares de calidad de hortalizas que cumplen con los requisitos exigidos por los mercados internacionales ([INTA, 2017](#)).

La producción total hortícola en el país en el año 2018 osciló entre los 8 y 10 millones de toneladas, de las cuales nueve especies (papa, tomate, cebolla, batata, zapallo, zanahoria, lechuga, poroto y ajo) representan el 65 %. De la producción total de hortalizas en la Argentina en el periodo enero-junio de 2018 se exportaron unas 440.000 toneladas ([SENASA, 2018](#)).

Nuestro país representa casi el 1% de las exportaciones de hortalizas del mundo. En cuanto a los principales destinos, Brasil es el líder (51%), seguido por Paraguay (32%). Otros mercados importantes son España y los Estados Unidos. Los volúmenes exportados representan más de un 10% de la producción nacional. En tanto, Argentina importa muy pocas hortalizas, en el orden de 5-10 millones de dólares, entre las cuales se destaca el tomate. Durante el periodo 2017, Brasil y Chile fueron los principales importadores, representando cerca del 97% de las importaciones argentinas ([INTA, 2017](#)).

### **2.2.3 Comercio en el Cinturón Hortícola de La Plata**

La producción de hortalizas es de gran importancia regional por diversos motivos. En primer término, como proveedor de alimentos. Debido a la exportación (aunque en bajo volumen), constituye también una fuente de ingresos importante. Asimismo, la horticultura genera un alto número de fuentes de trabajo. En general existe regionalización de la producción dada la elevada perecibilidad y la baja relación precio:volumen de los vegetales frescos. Finalmente, esta actividad se caracteriza por ubicarse en las cercanías de centros densamente poblados, tal es el caso del Cinturón Hortícola Platense ([Massolo, 2009](#)).

El último Censo Hortiflorícola de la provincia de Buenos Aires realizado en el año 2005, registró 1.047 unidades productivas en La Plata ([Fingermann, 2017](#)). Este Cinturón Hortícola, se caracteriza por una producción de hortalizas de gran relevancia, destinada principalmente a abastecer al núcleo de consumidores del conurbano Bonaerense y Ciudad Autónoma de Buenos Aires, que representa más de un 20% de la población nacional ([CHFBA, 2005](#)). Cabe destacar que el 85% del volumen producido es consumido en fresco, mientras que el porcentaje restante es industrializado ([Colamarino y col., 2006](#)).

Las hortalizas frescas producidas en el Cinturón Hortícola de La Plata pueden clasificarse por su importancia en cuatro grandes grupos ([García, 2011](#)):

- **Hortalizas de fruto:** tomate, alcaucil, pimiento, zapallo de tronco, chaucha, berenjena, pepino, haba, arveja y frutilla.
- **Hortalizas de hoja:** lechuga, acelga, espinaca, apio, cebolla de verdeo, puerro, hinojo, perejil, radicheta y rúcula.
- **Crucíferas:** brócoli, repollo, y coliflor.
- **Hortalizas pesadas:** remolacha, papa, batata, zapallo.

## 2.3 Manejo postcosecha de hortalizas

### 2.3.1 Buenas prácticas agrícolas

Las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) son todas las acciones tendientes a reducir los riesgos físicos, microbiológicos y químicos en la producción, cosecha y acondicionamiento en campo, procesamiento, empaque, transporte y almacenamiento de los productos frescos. Así, las BPA implican un conjunto de actividades que incorporan el manejo integrado de plagas y el manejo integrado del cultivo, con el fin de proporcionar un marco de agricultura sustentable, documentado y evaluable, para producir frutas y hortalizas respetando el medio ambiente ([FAO, 2007](#)).

Se conoce que las distintas prácticas de cosecha y postcosecha tienen implicancias comerciales directas. Así, cuando se mejoran las técnicas de cosecha y el tratado posterior del producto, el mismo presentará mejor apariencia y mayor vida en almacenamiento, lo que conduce a una rentabilidad mayor ([Graham, 2006](#)). Se debe tener en cuenta el punto óptimo de cosecha de acuerdo con las exigencias del

mercado. Luego es necesario organizar un sistema conveniente de manipulación, clasificación, empaque, transporte, y almacenamiento, de forma que se minimice la probabilidad de golpes y magulladuras. Esto es debido a que el daño físico es un tipo de estrés irreversible que conlleva a la ruptura celular con influencia en la pérdida de firmeza, desencadenamiento de reacciones de degradación por interacción entre enzimas y sustratos antes compartimentados, pérdida de nutrientes y desarrollo de infecciones por microorganismos (FAO, 2005). Por ello es de vital importancia capacitar a los trabajadores en instrucciones básicas de manipulación e higiene de productos frescos recién cosechados.

Cabe destacar que las BPA nacen como nuevas exigencias de los consumidores a los proveedores, permitiendo comprar alimentos sanos, producidos respetando el ambiente y el bienestar de los trabajadores. Para el productor, la ventaja principal es poder comercializar un producto diferenciado.

### **2.3.2 Las pérdidas en el sector fruti-hortícola**

Las pérdidas de alimentos a nivel mundial representan un tercio de la producción, lo que resulta inaceptable tanto por el desaprovechamiento directo de los productos como de la ineficiencia en el uso de recursos naturales y económicos (tierra, agua, fertilizantes, trabajo) (FAO, 2011). En la Argentina estas pérdidas no se encuentran sistematizadas, pero se estima que la situación no difiere marcadamente de la descrita a nivel global.

Las mermas más elevadas se concentran en el grupo de frutas y hortalizas frescas, pudiendo ascender al 50% en ciertos casos (FAO, 2014). Esto se debe a que la característica sobresaliente de estos productos es precisamente su condición de alta perecibilidad. Esto implica un reducido tiempo de vida útil comercial, existiendo desde el momento de cosecha hasta su consumo un rápido deterioro de la calidad y la disminución de su valor. Paralelamente, el almacenamiento es costoso. Si bien aplicar un adecuado protocolo de BPA es de gran utilidad para evitar pérdidas de alimentos durante su producción a fin de cuidar las cosechas es necesario contar además con un coordinado, eficaz y eficiente sistema de manipulación, almacenamiento y comercialización postcosecha (García, 2011). En este sentido, la refrigeración constituye la herramienta más efectiva para minimizar las pérdidas y retrasar la

senescencia natural de los vegetales. A su vez, en la actualidad, existen en evaluación numerosos tratamientos postcosecha complementarios a la refrigeración que permitirían almacenamientos más prolongados.

## **2.4 Métodos de conservación y tratamientos postcosecha**

### **2.4.1 Manipulación a campo tras la cosecha y almacenamiento**

En los países con clima templado, gran parte de la producción de frutas y hortalizas está confinada a períodos cortos de tiempo, por lo que el almacenamiento es esencial para prolongar el abastecimiento de la población luego de la época de cosecha. La vida máxima de almacenamiento de un vegetal cosechado depende del tipo de producto, del historial de su producción, de la calidad y de la madurez en el momento de la cosecha. Sin embargo, salvo en el caso de cultivos de raíz y de una minoría de frutas u hortalizas, la vida útil se encuentra en promedio dentro de los 15 a 30 días como máximo.

Existen diferentes formas de almacenamiento, cuya elección dependerá de su costo y aplicabilidad. Más allá de esto la refrigeración constituye la herramienta más efectiva para minimizar las pérdidas postcosecha y extender el tiempo de vida útil. A su vez, previo al almacenamiento refrigerado existen procedimientos básicos que ayudan a conservar por más tiempo la calidad original de los productos frescos. Estos incluyen la limpieza, clasificación por grados de calidad y selección, aplicación de sombra y/o la remoción del calor de campo inmediatamente después de la cosecha y antes de introducirlo en cámaras de almacenamiento refrigerado. Pueden aplicarse tratamientos suplementarios a la refrigeración como el curado de raíces, el uso de inhibidores químicos de la brotación (en papas y cebollas). Otros tratamientos como el encerado, uso de fungicidas y la fumigación, se usan principalmente en frutas.

### **2.4.2 Tecnologías de manejo postcosecha**

Las bajas temperaturas disminuyen la tasa metabólica, retrasan la senescencia, reducen la velocidad de desarrollo de microorganismos y otras reacciones de deterioro como el pardeamiento, la degradación de clorofilas y el ablandamiento excesivo (Kader, 2002a). Sin embargo, en productos altamente perecederos o aquellos sensibles al frío como los de clima tropical o templado, sus beneficios sólo pueden explotarse parcialmente. En la actualidad, resulta de sumo interés la evaluación de tratamientos

postcosecha complementarios a la refrigeración que puedan reducir el estrés de los vegetales y permitan almacenamientos más prolongados a baja temperatura.

Algunas estrategias complementarias frecuentemente utilizadas son:

- **Acondicionamiento térmico:** el almacenamiento a temperaturas moderadas previo a la refrigeración, puede aumentar la resistencia al frío. Entre los tratamientos de acondicionamiento más empleados, se encuentran aquellos a temperaturas de 30 °C a 40 °C en aire caliente durante tiempos que varían de horas a días dependiendo del producto (Lurie, 1998). La duración del tratamiento debe ser la adecuada para producir el efecto deseado, ya que, si se prolonga demasiado, puede ir en detrimento de la calidad (Martínez-Jávega y col., 1997). El acondicionamiento a altas temperaturas reduce el daño por frío probablemente porque se induce la síntesis de proteínas vinculadas a estrés térmico (*heat shock proteins*), algunas de las cuales podrían modificar propiedades de las membranas celulares proporcionando la base de la tolerancia térmica. Este tipo de procedimiento a alta temperatura y humedad produce además un curado de las heridas reduciendo las podredumbres y puede llegar a ser beneficioso para la calidad del fruto (Martínez-Jávega, 1997). En algunos casos, los efectos podrían estar relacionados con un incremento en el contenido de ácidos grasos insaturados, ácido abscísico o poliaminas (Martínez-Jávega y col., 1987).
- **Tratamientos térmicos intermitentes:** el calentamiento intermitente es otra de las técnicas utilizadas para aplacar el daño por frío y se basan en la fluctuación de la temperatura de almacenamiento entre valores bajos y altos una o más veces, durante un tiempo determinado. Este incremento de la temperatura sobre el punto crítico de daño durante la frigo-conservación, puede permitir al tejido recuperarse de la condición de estrés o, por el contrario, acelerar los procesos degradativos, en función del estado de la lesión (Hatton, 1990).
- **Atmósferas modificadas:** el empleo de atmósferas modificadas (AM) se basa en la generación de una composición gaseosa alternativa a la del aire para retrasar la respiración y otros procesos metabólicos vinculados a senescencia. Usualmente esto involucra la reducción de oxígeno (O<sub>2</sub>) y la elevación del dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (Lee y col., 1995), aunque pueden utilizarse atmósferas superoxigénicas (Zheng y col.,

2008). La concentración gaseosa alcanzada en un envase de AM depende de la cantidad de producto envasado, del tipo de producto y de su estado de madurez (que afectan la tasa respiratoria), además de la temperatura y las propiedades de permeabilidad de los envases (Lee y col., 1996).

- **Reguladores vegetales con función hormonal:** los reguladores hormonales o vegetales son compuestos de síntesis química de estructura análoga a las hormonas naturalmente presentes en el vegetal, y al igual que éstas, pueden tener influencia sobre un amplio rango de procesos fisiológicos y bioquímicos. Esto permite que, dependiendo de lo que se requiera para cada vegetal, su empleo y/o inhibición pueda retrasar o inhibir procesos de senescencia, deterioro o daño por frío. Se caracterizan por ser compuestos que ejercen su acción en concentraciones muy bajas ( $\text{mmol L}^{-1}$  -  $\text{nmol L}^{-1}$ ) por lo que los residuos que pudiesen quedar en el producto tratado serían despreciables (Massolo, 2015).

## 2.5 Hormonas vegetales y su uso en postcosecha

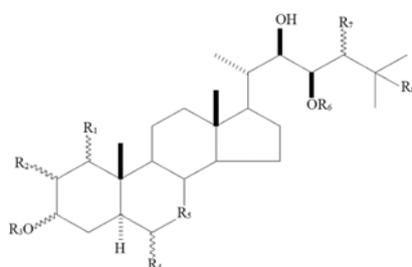
Las hormonas vegetales son sustancias orgánicas que se encuentran en muy baja concentración, se sintetizan en un sector de la planta y se trasladan a otro para ejercer su efecto regulador, aunque esto último no sea estrictamente necesario (Ludford, 1987; Bernasconi, 1998). Integran este grupo el etileno, metil-salicilato, inhibidores de algunos de ellos (1-metil-ciclopropeno, paclobutrazol) además de citoquininas, jasmonatos, auxinas, ácido abscísico, giberelinas y poliaminas. Todos han sido probados en diferentes vegetales como tratamientos postcosecha complementarios a la refrigeración con variable éxito (Javid y col., 2011). Entre los tratamientos más novedosos se hallan los brasinoesteroides, de particular interés en este trabajo, que pueden aplicarse tanto en cultivo como durante la postcosecha (Ali, 2017).

## 2.6 Brasinoesteroides

### 2.6.1 Generalidades de los brasinoesteroides

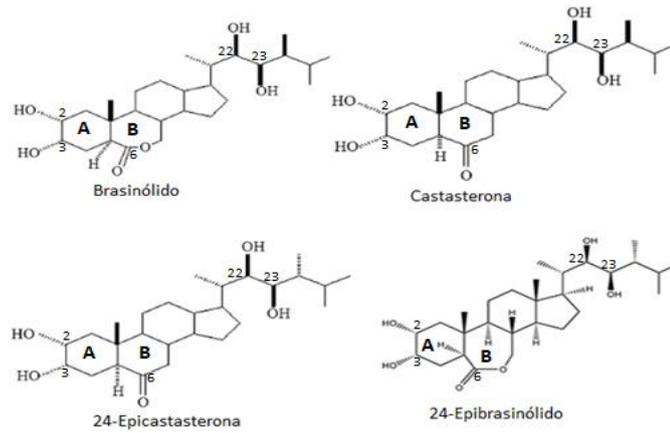
Los brasinoesteroides (BRs) son un grupo de reguladores vegetales clasificados como polihidroxi-esteroides. Estos han sido reconocidos como fitohormonas (Müssig y Altmann, 1999). Son ubicuos en el reino vegetal, encontrándose en diferentes tejidos y órganos, como semillas, raíces, tallos, hojas y frutos (Andrzej y Shamsul, 2008). Se encuentran implicados principalmente en el crecimiento y expansión celular de las plantas. Se pudo comprobar su influencia en la germinación, rizogénesis, floración, senescencia, abscisión como así también en la maduración. También se evidenció la capacidad de los BRs de conferir resistencia a las plantas contra estrés biótico y abiótico agrícola (Seeta y col., 2002; Salgado y col., 2008).

Estructuralmente los BRs cuentan con cuatro anillos y una cadena lateral (Figura 1) y se forman a partir de la condensación de bloques de cinco átomos de carbono (isoprenos). Los brasinoesteroides con mayor presencia en plantas son los que poseen 28 átomos de carbono con diferentes sustituyentes en dos anillos, así como en la cadena lateral. Se han identificado químicamente más de 50 brasinoesteroides de fuentes vegetales.



**Figura 1.** Estructura química de los brasinoesteroides naturales (Fuente: Bishop y Yokota, 2001).

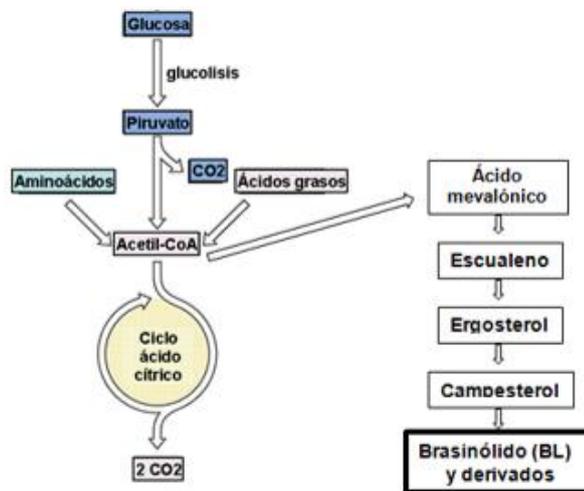
Las diferencias en cuanto a la estructura de los distintos brasinoesteroides naturales entre sí se debe a la presencia de un oxígeno en el átomo de carbono C-3 y otros adicionales en el C-2 y C-6 de los anillos A y B, así como en las posiciones del C-22 y C-23 de la cadena lateral (Figura 2) (Bishop y Yokota, 2001; Zullo y Adam, 2002).



**Figura 2.** Estructura molecular de los brasinoesteroides más bioactivos (Fuente: Coll, 2006; Salgado y col., 2008).

### 2.6.2 Biosíntesis de BRs

Los BRs se sintetizan en el estroma de la célula vegetal y luego se localizan en los cloroplastos, específicamente en los gránulos de almidón los cuales se asumen como sitios de almacenaje de estos potentes reguladores del crecimiento. Un esquema simplificado de su biosíntesis se muestra en la **Figura 3**.



**Figura 3.** Ruta simplificada de la biosíntesis de brasinoesteroides.

De manera más precisa, la ruta biosintética se puede dividir en dos grandes secciones: una de oxidación temprana y una de oxidación tardía (**Figura 4**). En la primera, que abarca la formación de esteroides, el escualeno obtenido a partir de Ac-CoA, se convierte en campesterol, a través de 13 reacciones bioquímicas; y en la segunda sección, el campesterol se convierte en brasinólido en 11 reacciones adicionales. El campesterol es el precursor inicial para la biosíntesis de brasinólido,

debido a la similitud de su esqueleto carbonado, junto con otros esteroides tales como  $\alpha$ -sitosterol, brasicastrol y 22-dehydrocolesterol (Wada y Marumo, 1981; Salgado y col., 2008).

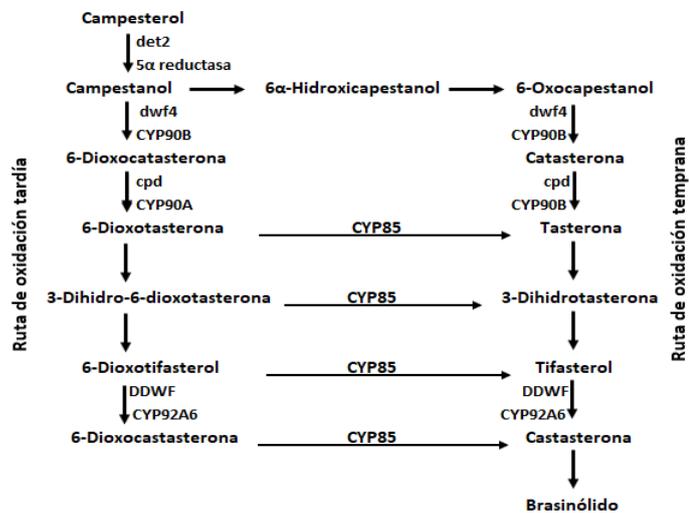


Figura 4: Ruta biosintética de brasinoesteroides (Fuente: Bishop y Koncz, 2002)

### 2.6.3 Formulaciones comerciales más conocidas de BRs

Si bien los efectos de BRs en pre y postcosecha son de reciente difusión, ya pueden encontrarse en el mercado diferentes formulaciones comerciales a nivel global. Entre ellos (Figura 5):

- **Vitazyme:** Fertilizante foliar y bioestimulante (Syngenta). Contiene brasinoesteroides y vitaminas.
- **Brasinost-1:** Utilizado en hortalizas, cereales y especies forestales. Biorregulador de crecimiento vegetal.
- **Bioflor-1:** Utilizado en flores. Bioestimulante, fertilizante y bioactivador natural.
- **Biomex:** Regulador de crecimiento vegetal. PhytoTechnology Laboratories: droga aislada pura.



Figura 5. Productos comerciales de formulaciones conteniendo brasinoesteroides.

#### 2.6.4 Efecto de BRs como tratamiento en pre- y postcosecha

Los BRs son esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Si bien se han identificado numerosos compuestos de la familia, el 'brasinólido' y el '24-epibrasinólido' son los más bioactivos y junto con la 'castasterona' son con frecuencia los más abundantes (Bishop y col., 1999; Bajguz y Hayat, 2009). El efecto de los BRs se encuentra estrechamente relacionado con la acción de otros reguladores vegetales de gran relevancia como: auxinas, giberelinas, ácido abscísico, ácido salicílico, jasmonatos, citoquininas y etileno (Saini y col., 2015). Los BRs están implicados en numerosos procesos tales como la elongación celular, fotosíntesis, fotomorfogénesis, crecimiento del tallo y la raíz, iniciación floral, desarrollo de flores y de frutos, formación de estomas, biosíntesis de etileno y senescencia. Además, estos inducen respuestas contra estrés biótico (insectos) y abiótico (salinidad, sequía, sustancias químicas agresivas, estrés térmico) (Workneh y Osthoff, 2010). Khripach y col. (1999) describieron el efecto benéfico de los BRs en la respuesta frente a estrés por déficit hídrico y por temperaturas inadecuadas.

Por otra parte, los BRs se han visto implicados en la aceleración de la degradación de clorofilas y el avance de la senescencia en diversos vegetales (Clouse y Sasse, 1998). En consecuencia, es de suponer que los BRs como tratamientos postcosecha o incluso aquellos presentes naturalmente en un vegetal determinado, tengan un impacto en detrimento de la vida útil. Por ejemplo, se halló que su aplicación indujo la producción de etileno y aceleró la senescencia en uva y mango (Symons y col., 2006; Zaharah y Singh, 2012). En este sentido, el empleo de un inhibidor de brasinoesteroides como el brasinazol (inhibidor de síntesis) podría contrarrestar el accionar de estas hormonas en la aceleración del envejecimiento de los tejidos, y en consecuencia extender el período de almacenamiento postcosecha.

Por el contrario, ciertos autores reportaron efectos beneficiosos de su aplicación en postcosecha. En mandarina el tratamiento con BRs generó una acumulación de moléculas señal como el peróxido de hidrógeno, que indujo la expresión de genes de respuesta contra estrés y la senescencia se vio retrasada (Zhu y col., 2015b). En durazno, la aplicación de 24-epibrasinólido (EBR) además de inhibir el ablandamiento redujo la acumulación de especies reactivas del oxígeno (ERO's) tales como peróxido de hidrógeno y superóxido (Gao y col., 2016). En pimiento verde, la aplicación de BRs

controló el estrés por frío y promovió la actividad de enzimas antioxidantes (Wang y col., 2012). Más allá de esto, en frutos no climatéricos e inmaduros como berenjena, pepino y zapallito, su efecto en la reducción del daño por frío no se conoce aún en profundidad.

## 2.7 Brócoli: origen, generalidades del cultivo y valor nutritivo

### 2.7.1 Descripción y clasificación botánica

El brócoli (*Brassica oleracea* var. *Itálica*) es una hierba o planta perenne de aproximadamente 60 cm en estado máximo de desarrollo, perteneciente a la familia *Brassicaceae*. La cabeza principal puede llegar a medir en promedio 10 cm de diámetro, y pesar 300 g mientras que los brotes laterales llegan a 2,5-3 cm de diámetro y 30 g de peso. La clasificación botánica del brócoli se muestra en la **Tabla 1**.

Esta planta posee abundantes inflorescencias comestibles, dispuestas en forma de árbol, sobre ramas que nacen de un grueso tallo. La gran masa de cabezuelas está rodeada de hojas. Posee yemas florales (una principal y otras laterales más pequeñas) que constituyen las partes comestibles. Las inflorescencias hipertrofiadas son de color verde, con cierto grado de compactación. La superficie está cubierta por ceras epicuticulares que son responsables del escurrimiento del agua al mojarlas y del color verde azulado y opaco característico. Las unidades elementales de las inflorescencias son fisiológica y morfológicamente estadios preflorales (Costa, 2005).

**Tabla 1.** Clasificación botánica del brócoli (Fuente: Hasperué, 2012).

Clasificación	Taxón
Reino	Plantae
Clase	Dicotiledónea
Orden	Brasicales
Familia	Brasicáceas
Género	Brassica
Especie	Oleracea
Variedad	Itálica
Nombre común	Brócoli



### **2.7.2 Posición en el mercado e importancia comercial**

A nivel mundial, España es el principal exportador de brócoli, no sólo a la Unión Europea sino también al resto del mundo. En Argentina, tiene un desarrollo creciente, en los últimos quince o veinte años, a pesar de que aún el consumo no supera los 700 u 800 g *per cápita* por año. La provincia de Buenos Aires concentra el 60% de la producción nacional, seguida por Santa Fe y Córdoba con una participación aproximada de 15% cada una (Aprea, 2008). Otras provincias productoras son Mendoza, San Juan, Río Negro y Corrientes. La producción llega a unas 3 mil toneladas anuales (Urdangarin, 2019).

### **2.7.3 Valor nutricional**

El brócoli ha sido calificado como la hortaliza de mayor valor nutritivo por unidad de peso de producto comestible debido a su gran aporte de vitaminas como la C, la B2 y la A, y de minerales como calcio, fósforo y hierro (Ayala, 2009). Posee además un alto poder antioxidante, generado principalmente por la presencia de vitamina C y de compuestos fenólicos (Latté y col., 2011). A su vez, estudios epidemiológicos han demostrado las propiedades benéficas para la salud por parte de esta hortaliza y han sido atribuidas principalmente a su alto contenido de glucosinolatos (Dinkova-Kostova y Kostov, 2012).

### **2.7.4 Postcosecha de brócoli**

La calidad postcosecha de brócoli debe cuidarse con detalle desde la recolección, evitando daños físicos y disminuyendo rápidamente el calor de campo del producto antes del almacenamiento refrigerado. La cosecha se debe realizar a mano en las primeras horas de la mañana, para evitar la deshidratación. Se recomienda extraer las cabezas de brócoli con algunas de las hojas que las rodean para que queden protegidas. A continuación, las inflorescencias se deben mantener en condiciones de alta humedad y bajas temperaturas ya que se trata de una hortaliza con alta velocidad de respiración, lo que reduce su vida útil (Costa, 2010).

Se requiere una temperatura de 0 °C y una HR >95% para optimizar la vida de almacenamiento (21-28 días). El brócoli almacenado a 5 °C puede tener una vida útil de 14 días, pero de sólo 5 días a 10 °C (Cantwell y Suslow, 2003a). Las tecnologías postcosecha para extender la vida útil del brócoli apuntan principalmente a retrasar el

amarilleamiento de las inflorescencias ya que este es el principal problema que lleva a perder la calidad del producto (Costa, 2010).

### 2.7.5 Senescencia

La senescencia es una fase del desarrollo y envejecimiento normal de plantas que precede a la muerte, o bien puede ser prematura inducida por estrés (Lim y col., 2003). En este último caso implica un proceso fisiológico en el cual un tejido vegetal detecta una situación desfavorable y modifica su metabolismo para contrarrestarlo, por ejemplo, al ser cosechado.

El proceso de senescencia se podría separar en tres etapas consecutivas:

- **1. Iniciación:** un estímulo hormonal y/o ambiental desencadena la senescencia, lo que produce un cambio a nivel genético que conduce a modificaciones en el estado redox celular. Hay rutas metabólicas que se aceleran y otras que dejan de funcionar.
- **2. Reorganización:** se produce la activación de rutas que generan movilización y reciclado de nutrientes, desorganización de cloroplastos y diferenciación reversible de organelas.
- **3. Fase terminal:** se liberan radicales libres, hay pérdida irreversible de la integridad celular y se produce la muerte de la célula.

El síntoma más evidente de la senescencia es la degradación de clorofila y el cambio de color de los tejidos de verde a tonos amarillos y/o naranjas (Buchanan-Wollaston, 2003). Otras características que se destacan son modificaciones en el metabolismo oxidativo y acción enzimática (incremento en la actividad de proteasas, peroxidasas, catalasas, peptidasas y polifenol oxidasas), degradación de lípidos (alteración de la estructura y funcionalidad de los lípidos de membranas, pérdida de compartimentación celular y desorganización de los tejidos) y ácidos nucleicos (aumento de la expresión de genes que codifican diferentes nucleasas) (Costa, 2005).

Entre los factores que participan en la regulación de la senescencia se encuentran los hormonales (reguladores vegetales como citoquininas y etileno), los ambientales y diversos factores bióticos y abióticos causantes de estrés (infección por patógenos, déficit de agua o nutrientes, estrés oxidativo inducido por ozono o por luz UV).

## 2.8 Zucchini: generalidades del cultivo y valor nutritivo

### 2.8.1 Descripción y clasificación botánica

El zucchini o calabacín (*Cucurbita pepo* L.) pertenece a la familia de las *Cucurbitáceas*. Es una planta anual, rastrera, cuyos tallos pueden alcanzar longitudes de hasta 10 metros. La clasificación botánica del zucchini se muestra en la **Tabla 2**.

Se trata de una planta de tallo corto, cilíndrico y asurcado, sobre el que se disponen las hojas. La floración es monoica, por lo que en una misma planta coexisten flores masculinas y femeninas. La parte aprovechable, el fruto, es una pepónide de forma ovalada, piel generalmente lisa, suave y de color variable entre el verde y el amarillo que puede medir entre 15-20 cm de largo (Fernández, 2009). En el interior del fruto se encuentran las semillas de color blanco, lisas y aplanadas.

**Tabla 2.** Clasificación botánica del zucchini (Fuente: Ruano, 2009)

<u>Clasificación</u>	<u>Taxón</u>
Reino	Plantae
Clase	Magnoliopsida
Orden	Violales
Familia	Cucurbitaceae
Género	Cucurbita
Especie	Cucurbita pepo L.
Nombre común	Zucchini o calabacín



### 2.8.2 Origen y posición en el mercado

Anualmente la producción mundial de *Cucurbitáceas* es de alrededor de 200 millones de toneladas (MT), de las cuales la mitad corresponden a sandía, una cuarta parte a pepino y el resto a melones, zapallos y otras (FAOSTAT, 2014). En el último censo publicado por INDEC (2002) se informó que Argentina produce anualmente alrededor de 1,3 MT de *Cucurbitáceas*, de las cuales el 60% corresponde a zapallo anco (*Cucurbita moschata*), zapallito “de tronco” o redondo (*Cucurbita máxima* var. Zapallito (Carr.) Millán), zapallito zucchini (*Cucurbita pepo*) y en menor medida otros zapallos. Los principales productores de esta hortaliza se encuentran en el litoral y en el noroeste del país, y proveen al principal centro de consumo ubicado en la Provincia de Buenos Aires, entre los meses de abril y septiembre. La oferta de la región

bonaerense se concentra durante el período estival (octubre a marzo). El cultivo se desarrolla en su inmensa mayoría a campo ([Massolo, 2015](#)).

### **2.8.3 Valor nutricional**

Esta hortaliza contiene cantidades significativas de ácido fólico, potasio y provitamina A y fitonutrientes importantes dentro de la familia de los carotenoides como luteína y zeaxantina. Es también considerada una fuente importante de carbohidratos, fibra, proteínas, vitamina C y magnesio. En menor cantidad se encuentran presentes vitamina E, tiamina, niacina y ácido pantoténico ([Ben-Noun, 2019](#)). [Pomares-Viciano y col., \(2018\)](#) informaron que el calabacín juega un papel importante en la nutrición saludable debido a su alto contenido de hidratos de carbono.

### **2.8.4 Postcosecha de zucchini**

El zapallito zucchini tiene una acotada vida postcosecha, de tan sólo 2 semanas cuando es conservado en condiciones óptimas de almacenamiento, esto es entre 5 y 10 °C y 90% de HR ([Suslow y Cantwell, 2003b](#)). Si bien para extender el tiempo de almacenamiento de cualquier producto hortícola es indispensable conservarlo a baja temperatura, el zucchini a temperaturas inferiores a las recomendadas es propenso a sufrir daño por frío dado su origen subtropical. Por ello, es necesario evaluar algún tratamiento acoplado a refrigeración por debajo de la temperatura óptima que sea capaz de inhibir o minimizar ese deterioro.

### **2.8.5 Daño por frío y su sintomatología**

La conservación en frío es considerada como la tecnología más efectiva para preservar la calidad de los productos fruti-hortícolas. Disminuir la temperatura equivale a reducir la velocidad de las reacciones metabólicas como la respiración, las reacciones enzimáticas de catabolismo y de oxidación, retrasando así la senescencia y el desencadenamiento de podredumbres. Sin embargo, la refrigeración no puede ser explotada en su totalidad en muchos productos sensibles al daño por frío (DF) como aquellos de origen tropical y subtropical ([Cuquerella y col., 1983](#); [Artés y Artés-Hernández, 2003](#)).

El DF muestra diversas sintomatologías. El problema más común (y visible) es el picado superficial (*pitting*), en el que áreas discretas de la piel y/o cutícula de frutas y hortalizas colapsan formando lesiones hundidas. Además, se acompaña de una activación del metabolismo a partir de la estimulación de la producción de etileno y el incremento de la tasa respiratoria (Sevillano y col., 2009). En los casos más graves, produce un trasvase de electrolitos y metabolitos entre los diversos compartimentos celulares (descompartimentación), llegando incluso a la ruptura de las membranas, necrosis y muerte del órgano o de la planta (Mazliak, 1992). Los frutos de piel delgada son más susceptibles, como así también los menos maduros. Suele observarse también mayor susceptibilidad a infecciones por microorganismos.

El almacenamiento de zucchinis a menos de 5 °C durante más de 3-4 días generalmente provocará lesiones por frío. La calidad visual y sensorial se deteriora y las picaduras superficiales y la decoloración o el ennegrecimiento progresan rápidamente. Las consecuencias de las lesiones por frío en esta hortaliza incluyen principalmente el *pitting*, el manchado o pardeamiento de la piel y la pudrición acelerada (Cantwell y Suslow, 1997).

#### **2.8.5.1 Tecnologías para reducir el daño por frío**

La reducción de la temperatura en productos hortofrutícolas con el objetivo de favorecer la aclimatación al frío se conoce como 'acondicionamiento'. Estos tratamientos se han empleado en frutos que sufren DF para minimizar las alteraciones a nivel metabólico desencadenadas como consecuencia de este desorden fisiológico (Massolo, 2015). Algunos autores demostraron que un acondicionamiento en zucchinis a 15 °C por 2 días disminuyó significativamente el DF cuando los frutos se almacenaron posteriormente a 5 °C (Wang, 1995 y 1996).

Otra tecnología empleada es el tratamiento a altas temperaturas (TAT), el cual consiste en colocar los vegetales por períodos de tiempo variables (desde pocos minutos hasta algunas horas), generalmente por inmersión en agua a 30-55 °C. Esto provoca una condición de estrés moderado por calor que mejora la respuesta ante condiciones de estrés subsecuente (Lurie, 1998). La reducción del DF por TAT ha sido empleada en numerosas frutas y hortalizas como berenjena, pimiento dulce, pepino, sandía, entre otros (Hatton, 1990).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo general**

Evaluar la influencia de la aplicación en postcosecha de un brasinoesteroide (24-epibrasinólido, EBR) y de su inhibidor de síntesis (brasinazol) en el desarrollo de la senescencia en brócoli. Estudiar el efecto del EBR en el retraso del desarrollo de daño por frío en zucchini.

#### **3.2 Objetivos específicos**

**O<sub>E1</sub>**: Estudiar la eficacia de tratamientos con a) EBR y b) brasinazol sobre la senescencia, la vida útil y la calidad de brócoli almacenado a 4 °C.

**Hipótesis 1**: Mientras que el EBR promueve la senescencia, su inhibidor permite extender la vida útil de brócoli almacenado a 4 °C.

**O<sub>E2</sub>**: Estudiar la eficacia de tratamientos con EBR para retrasar el daño por frío, extender la vida útil y mantener la calidad de zucchini almacenado a 4 °C.

**Hipótesis 2**: El EBR aplaca el estrés por frío de zapallito zucchini almacenado a 4 °C.

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1 Determinaciones analíticas en inflorescencias de brócoli**

#### **4.1.1 Material vegetal, tratamientos y almacenamiento**

Se emplearon inflorescencias de brócoli (*Brassica oleracea* L. var. Itálica) producidos en el Cinturón Hortícola de La Plata, provincia de Buenos Aires. Las cabezas de brócoli se cosecharon y se trasladaron inmediatamente al laboratorio, se clasificaron, se dividieron en subunidades o subcabezas (2 a 4 cm de diámetro) y se seleccionaron, descartando aquellas con defectos.

El material vegetal se sometió a tratamientos con 24-epibrasinólido y brasinazol, en concentraciones seleccionadas de acuerdo a ensayos previos. Se aplicaron dos concentraciones para 24-epibrasinólido,  $10^{-7}$  M (B7) y  $10^{-5}$  M (B5) en DMSO 5 mg/mL, y dos concentraciones para el brasinazol,  $10^{-7}$  M (I7),  $10^{-5}$  M (I5), en DMSO 5 mg/mL. Se asperjaron hortalizas con agua con DMSO 5 mg/mL como tratamiento control. La aspersión se realizó de igual forma en todos los lotes. Sobre las subcabezas ya clasificadas en grupos, empleando el mismo volumen de solución para todos los tratamientos, y desde una misma distancia y ángulo, permitiendo que la misma sea lo más reproducible posible. Se dejó actuar la aplicación durante 10 minutos y posteriormente se realizó el embandejado.

Se colocaron inflorescencias en bandejas plásticas (10 en cada una) y se cubrieron con PVC perforado para evitar la acumulación de CO<sub>2</sub> y la condensación de agua. Luego, se almacenaron por 0, 12 y 26 días a 4 °C y a cada tiempo de muestreo se transfirieron a 20 °C por 3 días (“+3”). Se llevaron a cabo determinaciones en tejido fresco y luego se congeló muestra en nitrógeno líquido y se almacenó a -80 °C para posteriormente realizar las determinaciones bioquímicas.

#### **4.1.2 Índice de senescencia (IS)**

Se evaluó visualmente el avance de la senescencia en función del grado de amarilleamiento, deshidratación y/o ataque fúngico de las inflorescencias, a partir de índices calculados empleando una escala de 0 (sin defectos) a 5 (deterioro exacerbado). Los índices se calcularon de acuerdo a:

$$IS = \sum (\text{Nivel de daño} \times N^{\circ} \text{ de individuos en el nivel}) / N^{\circ} \text{ de individuos totales}$$

### 4.1.3 Color

El color superficial se determinó con un colorímetro (Modelo CR-400, Minolta, Osaka, Japón). Se obtuvieron los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , y se calculó el ángulo hue (arco tangente ( $b^*/a^*$ )). Se analizaron los distintos lotes de brócolis para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento. Se realizaron 20 determinaciones de color por lote tratado.

### 4.1.4 Clorofilas y carotenoides

El contenido de clorofila (C) se determinó según Lichtenthaler (1987). Se pesaron alrededor 0,2 g de tejido previamente congelado y molido, y se extrajeron con 5 mL de acetona/agua 80:20 repetidamente hasta visualizar ausencia de pigmento en el tejido. Las muestras se centrifugaron a  $4.000 \times g$  por 10 min a  $4^\circ C$  y se midió la absorbancia del sobrenadante a 646 y 663 nm con un espectrofotómetro. Los contenidos de clorofila ( $\mu g mL^{-1}$ ) se calcularon según:

$$C a = 11,24 \times Abs\ 663\ nm - 2,04 \times Abs\ 646\ nm$$

$$C b = 20,13 \times Abs\ 646\ nm - 4,19 \times Abs\ 663\ nm$$

$$C\ total = 7,05 \times Abs\ 663\ nm + 18,09 \times Abs\ 646\ nm$$

A partir de los extractos previamente mencionados, se midió a su vez la absorbancia a 460 nm para determinar el contenido de carotenoides ( $\mu g mL^{-1}$ ) según:

$$Carotenoides = (1000 \times Abs\ 460 - 1,82 \times Clorofila\ a - 85,02 \times Clorofila\ b) / 198$$

Para ambos pigmentos las medidas se realizaron por duplicado y los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de clorofila o  $\beta$ -caroteno por kilogramo de fruto ( $mg\ kg^{-1}$ ).

### 4.1.5 Pérdida de peso

Se pesó el contenido de cada bandeja en una balanza granataria, al comienzo del experimento, y a los distintos tiempos de almacenamiento, tanto a  $4^\circ C$  como a  $20^\circ C$ . Los resultados obtenidos se expresaron como % de pérdida de peso.

#### **4.1.6 Tasa respiratoria**

Se colocó el contenido de cada bandeja individual en un frasco hermético y se registró la concentración de CO<sub>2</sub> producido durante 10 minutos a 20 °C, con un sensor IR (Alnor Compu-flow, modelo 8650, EEUU). Se calculó la actividad respiratoria a partir del volumen libre (espacio de cabeza) y el peso. Los resultados se expresaron como milimoles de CO<sub>2</sub> por kilogramo de peso fresco por hora (mmoles kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

#### **4.1.7 Capacidad antioxidante contra ABTS<sup>•+</sup>**

Se realizaron extractos etanólicos congelando tejido fresco con N<sub>2</sub> líquido, moliendo y pesando 1 gramo del polvo resultante. Posteriormente, se extrajo con 5 mL de etanol. La mezcla se homogeneizó en vortex, y se centrifugó a 5000 x *g* a 2 °C durante 10 minutos. Se midió la capacidad antioxidante del sobrenadante de acuerdo a [Arnao y col. \(2001\)](#) basándose en la reducción de la absorbancia a 734 nm de una solución del radical ABTS<sup>•+</sup>. La misma se preparó a partir de una solución de ABTS y persulfato de potasio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) en H<sub>2</sub>O. Se dejó en oscuridad durante 16 hs a temperatura ambiente, sin agitación.

La solución de ABTS<sup>•+</sup> se ajustó a una absorbancia de 0,70 ± 0,02 a 734 nm, con el agregado de etanol 96% v/v. La determinación se realizó adicionando 20 µL de extracto etanólico de los frutos a 1 mL de solución de ABTS<sup>•+</sup>, y se midió la absorbancia a 734 nm luego de 6 min. Se comprobó que la absorbancia no cambiara considerablemente en los tiempos de medida, y se realizaron los correspondientes blancos sin extracto, para verificar la estabilidad de la solución de ABTS<sup>•+</sup>. Se obtuvo una curva de calibración utilizando Trolox (Tx) como patrón. Se obtuvieron 2 extractos por tratamiento y tiempo de almacenamiento analizado y las determinaciones se hicieron por duplicado. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de Trolox por kilogramo de fruto (mg kg<sup>-1</sup>).

### **4.2 Determinaciones analíticas en zucchini**

#### **4.2.1 Material vegetal, tratamientos y almacenamiento**

Se emplearon zapallitos “zucchini” (*Cucurbita pepo* L.) producidos en el Cinturón Hortícola de La Plata, provincia de Buenos Aires. Los vegetales se cosecharon

y se trasladaron inmediatamente al laboratorio, se clasificaron y seleccionaron para las posteriores experiencias.

Los mismos se sometieron a tratamientos con 24-epibrasinólido, en concentraciones seleccionadas de acuerdo a ensayos previos:  $10^{-7}$  M (B7) y  $10^{-5}$  M (B5). Un lote de zapallitos se asperjó con agua con DMSO 5 mg/mL como tratamiento control (C). La aspersión se realizó sobre los zapallitos ya clasificados en lotes, empleando el mismo volumen de solución para los tratamientos, y desde una misma distancia y ángulo, permitiendo que la misma sea lo más reproducible posible. Se dejó actuar la aplicación durante 10 minutos y posteriormente se realizó el embandejado.

Los frutos se colocaron de a dos en bandejas plásticas, y se cubrieron con PVC perforado para evitar la acumulación de  $\text{CO}_2$  y la condensación de agua. Luego, se almacenaron por 0, 11, 18 días a 4 °C y por último se transfirieron a 20 °C por 2 días (“+2”). A cada tiempo de muestreo, se llevaron a cabo mediciones en tejido fresco y se congeló muestra en nitrógeno líquido que se almacenó a -80 °C para realizar determinaciones bioquímicas a futuro. Los frutos se congelaron en forma de rodajas para garantizar una toma de muestra representativa.

#### **4.2.2 Índice de daño por frío (IDF)**

Para poder establecer descriptores adecuados en la definición del IDF fue necesario llevar a cabo ensayos preliminares de inspección visual de los cambios de apariencia del vegetal (zucchini). En función del efecto de los tratamientos y/o del régimen de almacenamiento se evaluaron los problemas que caracterizaron al producto. Como consecuencia, se evaluó la severidad del daño por frío por la aparición de picado superficial (*pitting*), deshidratación, amarilleamiento y/o pardeamiento superficial, a partir de índices calculados empleando una escala de 0 (sin defectos) a 3 (deterioro exacerbado). Los índices se calcularon de acuerdo a:

$$\text{IDF} = \frac{\sum (\text{Nivel de daño} \times \text{N}^\circ \text{ de individuos en el nivel})}{\text{N}^\circ \text{ de individuos totales}}$$

#### **4.2.3 Pérdida de electrolitos**

Con un sacabocados se obtuvieron discos superficiales de frutos, de 8 mm de diámetro y aproximadamente 5 mm de espesor. Seguidamente, 10 discos (aproximadamente 3,5 g) se colocaron en vasos de precipitado, y se hicieron 3 lavados

con 10 mL de agua destilada, dejando actuar 5 minutos y descartando el líquido cada vez. Luego, se agregaron 30 mL de agua destilada, se agitó en *shaker* (IKA MS1 S1) a 175 rpm durante 30 min a 20 °C. Pasado ese tiempo se midió la conductividad ( $C_{30}$ ) con un conductímetro (Oakton, pH/CON 510, Estados Unidos). Posteriormente, los discos en suspensión se disgregaron por hervor durante 15 minutos, realizando el tapado de los vasos de precipitados evitando pérdidas de volumen, y sobre la fase líquida se midió la conductividad total ( $C_{total}$ ). Todas las medidas se realizaron a 20 °C y por triplicado para cada tiempo y tratamiento. Los resultados se expresaron como % de electrolitos liberados en las condiciones del ensayo:

$$\text{Pérdida de electrolitos (\%)} = 100 \times C_{30} / C_{total}$$

#### 4.2.4 Sólidos solubles (SS)

Se llevó a cabo una molienda de tejido congelado con  $N_2$  líquido, y se tomó parte del polvo (aproximadamente 1 gramo). Posteriormente, este se descongeló y se filtró por presión a través de una tela/gasa hasta obtener unas pocas gotas. El contenido de SS del filtrado se determinó a partir de un refractómetro digital (Hanna Instruments, HI 96813, Alemania). Las medidas se realizaron por duplicado, y los resultados se expresaron como % p/p.

#### 4.2.5 Compuestos fenólicos

Los extractos etanólicos se realizaron como se describió en la sección 4.1.7. El contenido de compuestos fenólicos se determinó de acuerdo a [Singleton y col. \(1999\)](#). Se colocaron 150  $\mu$ L de extracto etanólico en tubos de vidrio, luego se agregaron 1,2 mL de agua destilada y seguidamente 50  $\mu$ L del reactivo Folin-Ciocalteu 1:1 en agua. Las muestras se agitaron con vortex, y luego de 3 minutos a 20 °C se agregaron 100  $\mu$ L de  $Na_2CO_3$  20% (p/v) en NaOH 0,1 eq.  $L^{-1}$ . Los tubos se homogeneizaron en vortex y las muestras se incubaron a 20 °C por 1 hora. Luego, se midió la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro (Hitachi U 1900, Japón). Se prepararon dos extractos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento analizado, y se realizó la medida por triplicado. Se empleó una curva de calibración con ácido clorogénico como estándar y los resultados se expresaron como gramos equivalentes de ácido clorogénico por kilogramo de peso fresco ( $mg\ kg^{-1}$ ).

## 4.2.6 Metabolitos y enzimas de estrés oxidativo

### 4.2.6.1 Malonaldehido (MDA)

Se mezclaron aproximadamente 1,5 g de polvo de tejido fresco con 5 ml de ácido tricloroacético (TCA) 0,1%, se agitó en vortex, y se centrifugó a 5000 x g por 10 min. Posteriormente se tomaron 0,5 ml del sobrenadante y se agregó 1 ml de la mezcla de reacción compuesta por ácido TCA 20% – butil-hidroxitolueno (BHT) 0,01% – ácido tio-barbitúrico (TBA) 0,5%. La mezcla se calentó en un baño termostatizado a 95 °C durante 30 minutos, y luego se enfrió rápidamente en baño de hielo. El contenido de MDA ( $\text{mol L}^{-1}$ ) se determinó espectrofotométricamente a 532 y 600 nm, y su concentración se calculó usando un coeficiente de extinción  $\epsilon$  ( $1,55 \times 10^{-5} \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) según:

$$\text{MDA} = [(A_{532} - A_{600}) / \epsilon].$$

Se realizaron 2 extractos por tratamiento y tiempo de almacenamiento y las determinaciones se hicieron por duplicado. Los resultados se expresaron como mg por kilogramo de fruto ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).

### 4.2.6.2 Actividad polifenol oxidasa (PPO)

Para obtener los extractos enzimáticos se realizaron moliendas de tejido congelado en  $\text{N}_2$  (l) en molinillo, y se añadieron aproximadamente 5 g a 20 mL de buffer fosfato (50 mM, pH 6,5) conteniendo polivinil-polipirrolidona, (PVPP,  $10 \text{ g L}^{-1}$ ), fluoruro de fenil-metil-sulfonilo (PMSF, 1 mM) y NaCl (1 M). La suspensión se centrifugó a 5000 x g durante 10 min a 2 °C y se separó el sobrenadante.

La determinación se llevó a cabo de acuerdo a [Massolo \(2009\)](#). Aproximadamente 2,5 g de polvo obtenido, se homogeneizaron por 2 min en un vortex con 10 mL de buffer  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,02 M,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0,03 M, pH 6,5, conteniendo PVPP  $10 \text{ g L}^{-1}$  y Tritón-X100 0,1% (v/v). La suspensión se centrifugó a 5000 x g por 15 min a 2 °C, y el sobrenadante se empleó para ensayar la actividad PPO. La mezcla de reacción se preparó a partir de 1000  $\mu\text{L}$  de buffer fosfato 100 mM pH 6,5; 950  $\mu\text{L}$  de agua destilada; 1000  $\mu\text{L}$  de pirocatecol 20 mM, y 50  $\mu\text{L}$  de extracto diluido (1:10), sumando un volumen total de 3 mL. En ensayos preliminares se verificó linealidad en la actividad enzimática de 0 a 100 segundos, rango que fue considerado en el ensayo, midiendo la Abs a 410 nm cada 20 segundos.

Se prepararon dos extractos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento, y las determinaciones se realizaron por duplicado. Los resultados se expresaron como el cambio en la densidad óptica en un segundo bajo las condiciones del ensayo, por kilogramo de fruto ( $\Delta DO \text{ kg}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ).

#### **4.2.7 Color, pérdida de peso, tasa respiratoria, y antioxidantes contra ABTS<sup>•+</sup>**

Las determinaciones se realizaron como se describió en las secciones 4.1.3, 4.1.5, 4.1.6 y 4.1.7 respectivamente.

#### **4.3 Análisis estadístico**

Se llevó a cabo a partir de un diseño totalmente aleatorizado empleando el software INFOSTAT. Los resultados se sometieron a un análisis de varianza y las medias se compararon utilizando el test de Fisher, a un nivel de significancia de  $P \leq 0.05$ .

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Rol del 24-epibrasinólido y de su inhibidor de síntesis (brasinazol) en inflorescencias de brócoli almacenadas a 4 °C

#### 5.1.1 Índice de senescencia (IS)

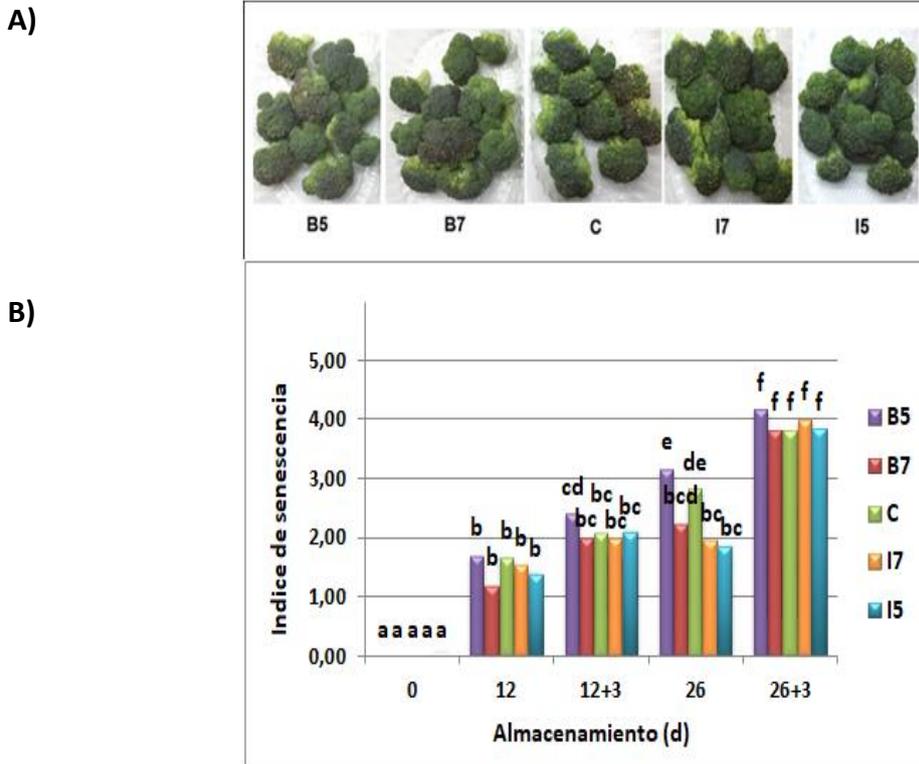
Entre los principales síntomas de senescencia en brócoli se destaca el desarrollo de amarilleamiento, pardeamiento y deshidratación, sumado a la pérdida de integridad del tejido y funcionalidad de las membranas celulares (Lemoine, 2009).

Los BRs se unen a receptores de membrana celular y esto hace que se desencadene una cascada de respuestas mediante fosforilaciones y factores de transcripción que ingresan al núcleo y disparan una respuesta a nivel génico. Algunos autores sostienen que en ausencia de BRs se activan los genes de biosíntesis y se inhiben los genes de respuesta, y en presencia de BRs ocurre lo contrario (Clouse y col., 2013).

En el presente trabajo se observó que, las inflorescencias tratadas con 24-epibrasinólido  $10^{-5}$  M (B5) exhibieron una tendencia a encontrarse más deteriorados que el control (C) a los 26 días de conservación a 4 °C, aunque las diferencias no resultaron significativas (**Figura 6A**). Las diferencias visuales en amarilleamiento, pardeamiento y deshidratación entre ambos tratamientos fueron sutiles. El tratamiento B7 resultó aún más parecido al control en el comportamiento senescente (**Figura 6A**). Por otro lado, el tratamiento con el inhibidor de brasinoesteroides, brasinazol, en concentraciones de  $10^{-7}$  M (I7) y  $10^{-5}$  M (I5), conservó mejor la apariencia del brócoli, ya que mostró a este tiempo (26 d) el menor grado de desverdizado y mayor brillo y turgencia (**Figura 6A**).

A los 26 días de almacenamiento a 4 °C, el tratamiento I5, seguido por I7, retrasó la senescencia de forma marcada respecto del control (**Figura 6B**). Por otro lado, el índice de senescencia de todos los tratamientos se equiparó cuando luego del período de refrigeración (12 y 26 d) el material se transfirió a 20 °C por 3 días. Esto podría compararse con lo hallado por Zhu y col. (2015a) quienes, a diferencia de la gran mayoría de estudios en brasinosteroides, estudiaron la influencia de los mismos en comparación con la de su inhibidor en la senescencia de hortalizas, en este caso en tomate. Estos autores encontraron que un lote de frutos tratados con brasinólido

( $3 \times 10^{-6}$  M), almacenados a 20 °C durante 20 días, presentó senescencia acelerada respecto del control y por otro lado observaron el efecto opuesto al aplicar brasinazol ( $5 \times 10^{-6}$  M). De esto dedujeron que la senescencia de tomates se veía afectada por la segregación endógena de BRs.



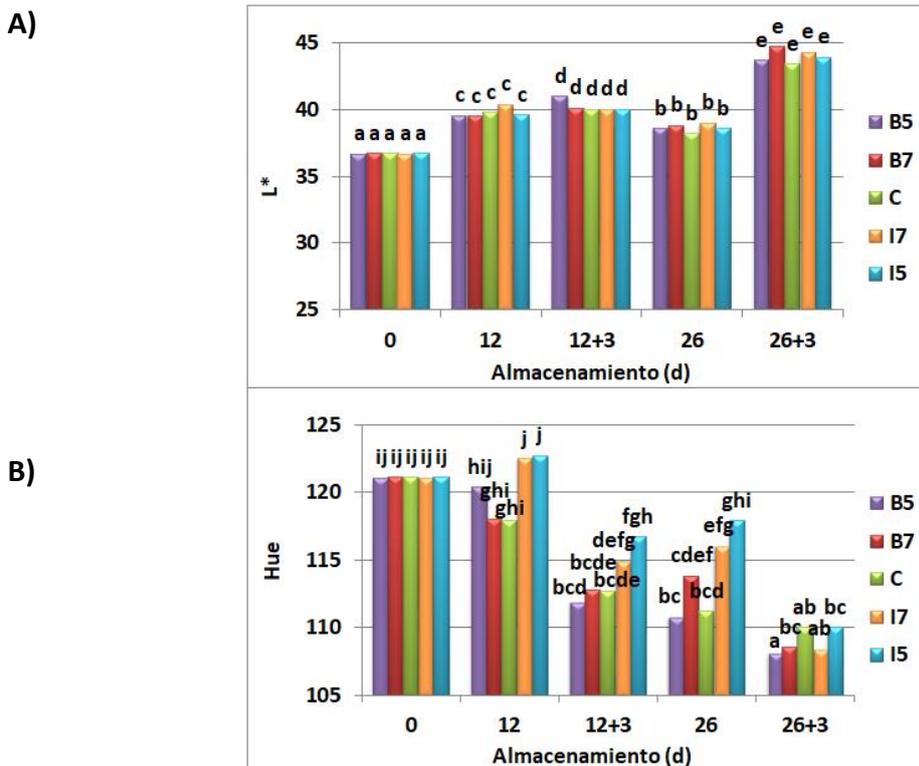
**Figura 6. A)** Aspecto de brócoli sometido a tratamientos con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-5}$  M (B5) y  $10^{-7}$  M (B7), control (C), y brasinazol en concentraciones de  $10^{-7}$  M (I7) y  $10^{-5}$  M (I5), almacenados por 26 días a 4 °C. **B)** Índice de senescencia en brócoli tratado con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-5}$  M (B5) y  $10^{-7}$  M (B7), control (C), y brasinazol en concentraciones de  $10^{-7}$  M (I7) y  $10^{-5}$  M (I5), almacenados por 0, 12 y 26 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 3 días (“+3”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

### 5.1.2 Color

El principal síntoma de deterioro después de la cosecha del brócoli es el amarilleamiento, el cual se hace visible desde el momento en el que el contenido de clorofila comienza a disminuir (Costa y col., 2005; Hasperué y col., 2013). En el presente trabajo la evolución del color se determinó mediante los parámetros L\* (luminosidad), cuyo incremento denota un color más claro del tejido dado por un avance del amarilleamiento (Ren y col., 2005), y el ángulo Hue (tono), cuya caída se

correlaciona con la aparición de colores amarillos y pérdida de color verde característico.

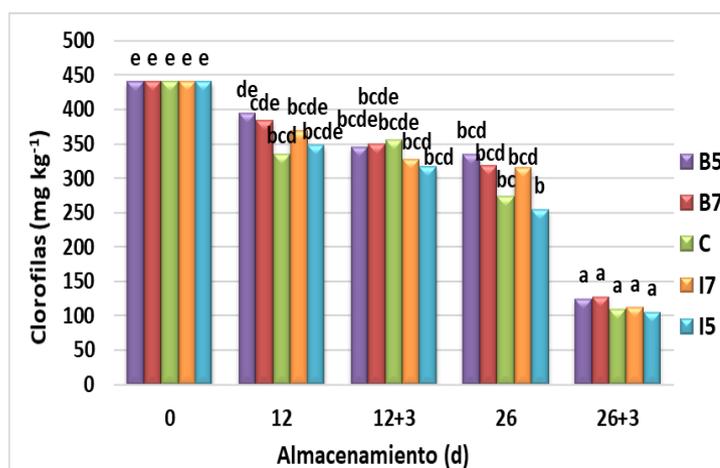
A lo largo del almacenamiento los valores de  $L^*$  se incrementaron de forma similar en todas las inflorescencias (**Figura 7A**). Por otra parte, los tratamientos I7 e I5 mostraron los mayores valores de Hue, lo que implica que retrasaron el amarilleamiento frente al control y al tratamiento con brasinoesteroides. Esta tendencia se hizo evidente ya a partir de los 12 días hasta el día 26 a 4 °C (**Figura 7B**). Por su parte, el lote control (C) no exhibió diferencias marcadas con las inflorescencias tratadas con EBR. En concordancia, otros autores tampoco reportaron diferencias entre brócolis tratados con EBR frente a un control, almacenados a 4 °C (Cai y col., 2019). Sobre el final del almacenamiento, al trasladar a temperatura ambiente (26+3 d) el ángulo hue disminuyó y las diferencias entre tratamientos prácticamente no existieron debido al avance generalizado del deterioro.



**Figura 7. A)** Luminosidad ( $L^*$ ) y **B)** Tono (Hue) de brócoli tratado con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-5}$  M (B5) o  $10^{-7}$  M (B7), control (C), y tratado con brasinazol en concentraciones de  $10^{-7}$ M (I7) o  $10^{-5}$ M (I5), almacenados por 0, 12 y 26 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 3 días (“+3”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

### 5.1.3 Clorofilas

El cambio de color producido durante el proceso fisiológico de senescencia puede relacionarse directamente con la degradación de clorofilas durante el período postcosecha. En el presente trabajo, se observó una disminución del contenido de este pigmento con el avance del almacenamiento, sin embargo, no existieron diferencias de importancia debidas a los tratamientos con brasinoesteroides o con su inhibidor (**Figura 8**). Este comportamiento no se correlacionó con la tendencia observada para los parámetros de color anteriormente descritos, lo que puede deberse a que con frecuencia cuando los cambios en la medida instrumental de color son discretos no necesariamente se ven reflejados en las variaciones en el contenido de clorofilas. De todas formas, se observó una leve tendencia positiva hacia el mantenimiento del color verde para los tratamientos B5, B7 e I7 respecto de C a los 12 y 26 días de almacenamiento a 4 °C. [Cai y col. \(2019\)](#) hallaron en otro experimento en brócoli que el contenido de clorofilas disminuyó con concentraciones crecientes de BRs.



**Figura 8.** Contenido de clorofila total de brócoli tratado con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-5}$  M (B5) o  $10^{-7}$  M (B7), control (C), y tratado con brasinazol en concentraciones de  $10^{-7}$  M (I7) o  $10^{-5}$  M (I5), almacenados por 0, 12 y 26 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 3 días (“+3”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

### 5.1.4 Carotenoides y pérdida de peso

El amarilleamiento progresivo observado durante el almacenamiento de las inflorescencias de brócoli se encuentra relacionado a la exposición de los carotenoides tras la degradación de las clorofilas, cuyo color verde enmascara las tonalidades amarillentas de los carotenoides ([Sun y col., 2018](#)). Aunque el tratamiento I5 exhibió

menor contenido de carotenoides que el lote C, el tratamiento I7 superó o mantuvo de igual forma la concentración del pigmento en el tejido (**Tabla 3**).

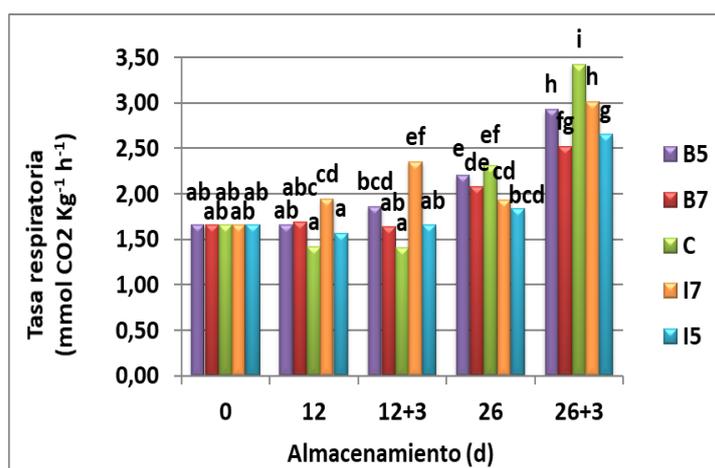
Uno de los factores que determinan la calidad postcosecha de hortalizas es la turgencia del tejido, propiedad relacionada a su vez con el grado de deshidratación que puede monitorearse mediante la pérdida de peso durante el almacenamiento (Toivonen 1998; Serrano y col., 2006). Las inflorescencias de brócoli exhibieron un incremento continuo esperado en la pérdida de peso durante el almacenamiento, tanto a 4 °C como a 20 °C independientemente del lote considerado (**Tabla 3**). En general, B7 fue el tratamiento que generó el menor nivel de deshidratación, seguido por el lote control que no mostró diferencias con los restantes tratamientos. Cabe destacar que esta tendencia se mantuvo hasta el final del almacenamiento y la pérdida de peso presentó niveles aceptables para todos los tratamientos excepto para I7 que desarrolló un incremento atípico ya que superó el 20%.

**Tabla 3.** Contenido de carotenoides y pérdida de peso en brócoli tratado con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-5}$  M (B5) o  $10^{-7}$  M (B7), control (C), y tratado con brasinazol en concentraciones de  $10^{-7}$  M (I7) o  $10^{-5}$  M (I5), almacenados por 0, 12 y 26 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 3 días (“+3”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

Tratamiento		Régimen de almacenamiento				
		0	12	12+3	26	26+3
Carotenoides (mg kg <sup>-1</sup> )	B5	103 <sup>de</sup>	118 <sup>h</sup>	106 <sup>def</sup>	109 <sup>efg</sup>	57 <sup>b</sup>
	B7	103 <sup>de</sup>	114 <sup>fgh</sup>	105 <sup>def</sup>	104 <sup>de</sup>	57 <sup>b</sup>
	C	103 <sup>de</sup>	97 <sup>d</sup>	110 <sup>efgh</sup>	103 <sup>de</sup>	48 <sup>ab</sup>
	I7	103 <sup>de</sup>	116 <sup>gh</sup>	106 <sup>def</sup>	99 <sup>d</sup>	50 <sup>ab</sup>
	I5	103 <sup>de</sup>	104 <sup>de</sup>	86 <sup>c</sup>	87 <sup>c</sup>	48 <sup>ab</sup>
Pérdida de peso (%)	B5	0 <sup>a</sup>	6,5 <sup>d</sup>	8,0 <sup>de</sup>	11,5 <sup>f</sup>	15,7 <sup>gh</sup>
	B7	0 <sup>a</sup>	3,3 <sup>b</sup>	5,7 <sup>cd</sup>	8,3 <sup>de</sup>	8,5 <sup>de</sup>
	C	0 <sup>a</sup>	3,9 <sup>bc</sup>	6,7 <sup>d</sup>	11,3 <sup>ef</sup>	15,7 <sup>h</sup>
	I7	0 <sup>a</sup>	7,6 <sup>d</sup>	10,8 <sup>ef</sup>	12,7 <sup>fg</sup>	23,1 <sup>i</sup>
	I5	0 <sup>a</sup>	3,4 <sup>bc</sup>	8,5 <sup>de</sup>	12,2 <sup>f</sup>	15,6 <sup>gh</sup>

### 5.1.5 Tasa respiratoria (TR)

La respiración es el proceso por el cual los materiales orgánicos almacenados son desdoblados en moléculas simples ( $\text{CO}_2$  y agua) con liberación de energía. Luego de la cosecha, conforme las reservas que proporcionan energía para el mantenimiento de la actividad fisiológica se agotan, se produce una aceleración de la senescencia (Kader, 2002b). De esta forma, una alta tasa respiratoria resulta en una mayor velocidad de deterioro del vegetal y se correlaciona inversamente con la extensión de la vida postcosecha (Kader, 2002b; Saltveit, 2004). La actividad respiratoria varía ampliamente entre vegetales, productos como el brócoli muestran una alta TR y son muy perecederos (Toivonen, 2011). En este trabajo, luego de 12 días a  $4^\circ\text{C}$  el tratamiento I7 mostró la mayor tasa respiratoria, comportamiento que se acentuó cuando las muestras se trasladaron a  $20^\circ\text{C}$ , mientras que no existieron diferencias entre los restantes tratamientos (Figura 9).



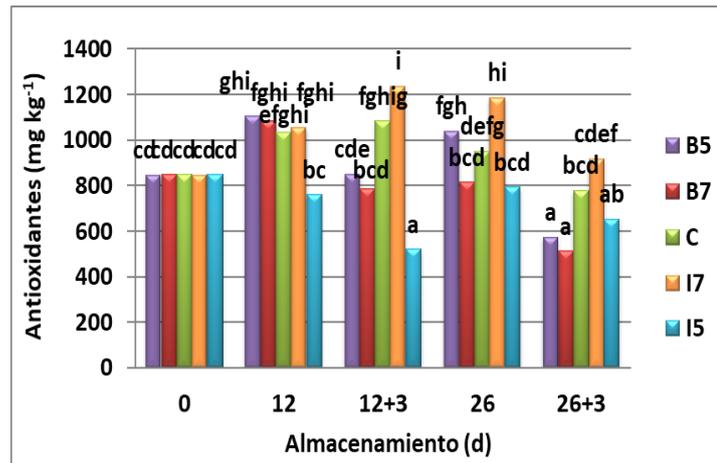
**Figura 9.** Tasa respiratoria de brócoli tratado con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-5}$  M (B5) o  $10^{-7}$  M (B7), control (C), y tratado con brasinazol en concentraciones de  $10^{-7}$  M (I7) o  $10^{-5}$  M (I5), almacenados por 0, 12 y 26 días a  $4^\circ\text{C}$  y luego transferidos a  $20^\circ\text{C}$  por 3 días (“+3”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

Hacia el final del almacenamiento, a los 26 y 26+3 días, ambos lotes de brócoli tratados con el inhibidor de brasinoesteroides (I7 e I5) retrasaron el incremento de la actividad respiratoria observado en el grupo control.

### 5.1.6 Capacidad antioxidante contra ABTS<sup>•+</sup>

En el presente trabajo, el contenido de antioxidantes aumentó marcadamente a los 12 días a  $4^\circ\text{C}$  para todos los tratamientos, excepto para I5 (Figura 10). Similares

resultados han sido reportados por otros autores, indicando que la capacidad antioxidante de las inflorescencias de brócoli en postcosecha puede mantenerse o aumentar levemente durante el almacenamiento (Toivonen y Sweeney, 1998; Leja y col., 2001; Hasperué y col., 2015). El lote 17 presentó el mayor incremento de antioxidantes tanto al día 26 a 4 °C como luego del traspaso de las muestras a 20 °C, tanto a 12d+3 como a 26+3 d.



**Figura 10.** Capacidad antioxidante contra ABTS<sup>•+</sup> en brócoli tratado con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-5}$  M (B5) o  $10^{-7}$  M (B7), control (C), y tratado con brasinazol en concentraciones de  $10^{-7}$  M (I7) o  $10^{-5}$  M (I5), almacenados por 0, 12 y 26 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 3 días (“+3”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

Por otra parte, en dichas salidas de cámara, los tratamientos B5, B7 e I5 exhibieron menor capacidad antioxidante que el C. En resumen, el tratamiento I7 mejoraría las propiedades antioxidantes del brócoli hasta un almacenamiento de 26 días a 4 °C y hasta mantendría los niveles del producto fresco (d0) luego de 26+3 días.

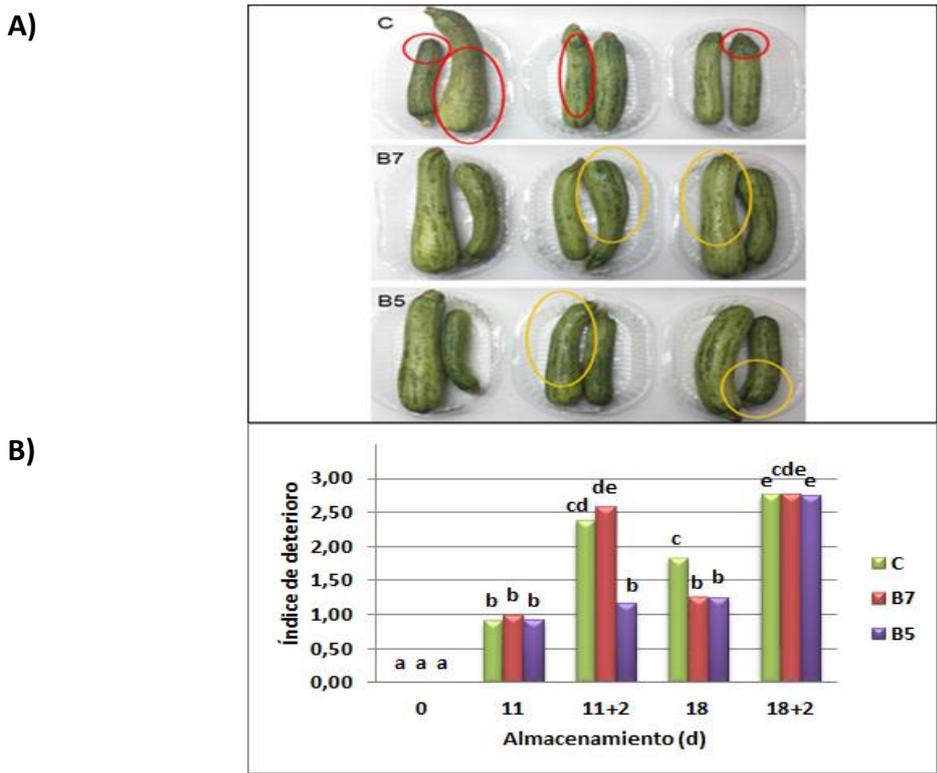
## 5.2 Efecto del 24-epibrasinólido en frutos de zucchini almacenados a 4 °C

### 5.2.1 Índice de daño por frío (DF)

En zucchini, el DF genera síntomas característicos tales como picado superficial, pardeamiento de la zona afectada que deviene en infección por microorganismos, especialmente hongos. La **Figura 11A** muestra que los tratamientos con EBR mantuvieron una mejor apariencia que los frutos del lote C. Tras 18 días a 4 °C, los círculos rojos en el lote control (C) indican la presencia de zonas pardas oscuras en las

puntas, deshidratación y picado superficial, mientras que los amarillos denotan la presencia de zonas brillantes y de tejido turgente en los tratamientos con 24-epibrasinólido  $10^{-7}$  M (B7) y  $10^{-5}$  M (B5).

Las diferencias de aspecto a nivel superficial fueron cuantificadas mediante un índice de daño por frío (**Figura 11B**). A pesar de haber muy pocos estudios que hayan estudiado el efecto de BRs en postcosecha sobre hortalizas de fruto no climatéricas consumidas inmaduras, los resultados aquí presentados se encuentran en concordancia con los primeros. El tratamiento con BRs retrasó el DF de zucchini así como fue reportado en pimiento verde y en berenjenas (Wang y col., 2012; Gao y col., 2015). Los autores sugieren que el mecanismo por el cual los BRs inducen la resistencia al frío puede deberse a la estimulación de enzimas antioxidantes y a la protección contra el daño oxidativo de la membrana celular.

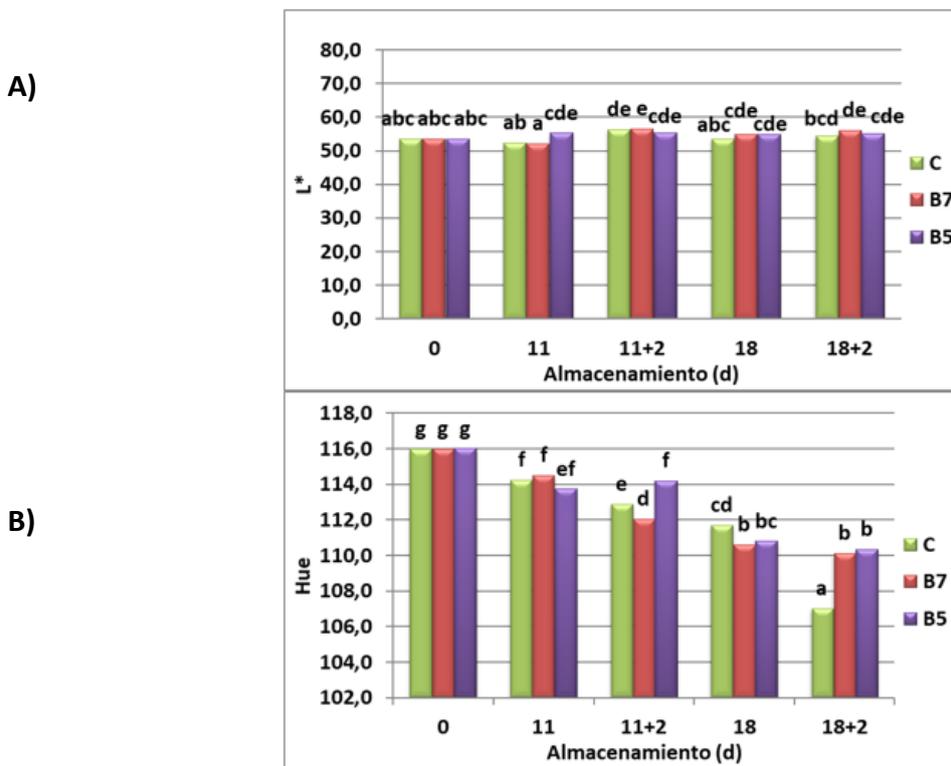


**Figura 11. A)** Aspecto de zucchini control (C) y tratados con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-7}$  M (B7) y  $10^{-5}$  M (B5), almacenados por 18 días a 4 °C. **B)** Índice de daño por frío de zuchinis control (C) y tratados con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-7}$  M (B7) y  $10^{-5}$  M (B5), almacenados por 0, 11 y 18 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días (“+2”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

Durante el régimen de almacenamiento refrigerado se observó un incremento paulatino en el deterioro de los zucchinis y de forma más pronunciada al transferir a 20 °C por 2 días. Cabe destacar que a los 11+2 d el tratamiento B5 mostró un índice comparable a la mitad del encontrado para el grupo C. En tanto, luego de 18 d a 4 °C ambos tratamientos con EBR lograron conservar mejor el aspecto global de los zucchinis respecto del control. Al pasar los frutos a temperatura ambiente por 2 días, el DF se hizo evidente en los tres lotes de frutos debido a la avanzada senescencia.

### 5.2.2 Color

En líneas generales, salvo a día 11 entre B5 respecto de B5 y C, los tratamientos no presentaron diferencias significativas entre sí en el parámetro L\* (**Figura 12A**). El incremento general de L\* a los 11+2 d, sobre todo de los lotes C y B7 pudo atribuirse a la claridad generada por el cambio de tonos más verdes a tonos menos verdes o amarillentos.



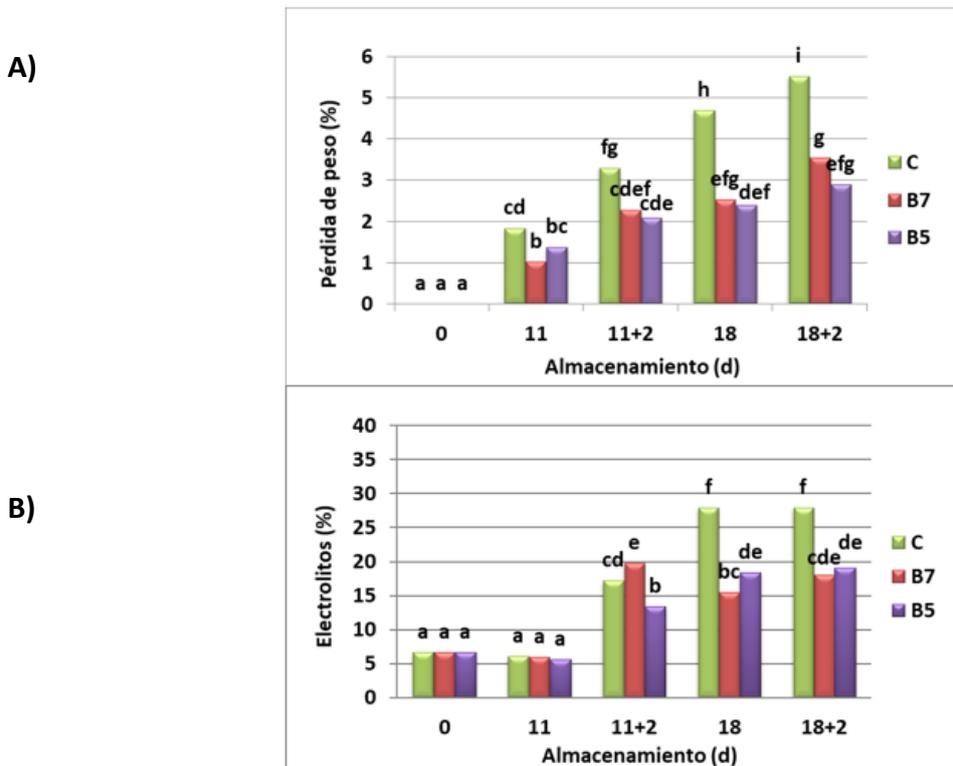
**Figura 12. A)** Luminosidad (L\*) y **B)** Tono (Hue) en zucchinis control (C) y tratados con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-7}$  M (B7) o  $10^{-5}$  M (B5), almacenados por 0, 11 y 18 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días (“+2”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

En tanto, se observó una disminución progresiva del ángulo Hue producto de la pérdida de tonalidad verde a lo largo del almacenamiento (**Figura 12B**), en concordancia con lo hallado en un trabajo previo ([Massolo, 2015](#)). [Jacobi y col., \(1996\)](#) también corroboraron el aumento del amarilleamiento conforme a la caída del ángulo Hue durante el almacenamiento de zucchinis a 7 °C.

Cabe destacar que luego de 18 días, al transferir los frutos de 4 a 20 °C los tratamientos con EBR retrasaron significativamente la pérdida de color respecto del control, cuyo ángulo Hue disminuyó.

### 5.2.3 Pérdida de peso y de electrolitos

La pérdida de peso se incrementó a lo largo del almacenamiento para los tres lotes de zucchinis (**Figura 13A**). No obstante, los frutos tratados con EBR tanto en concentraciones de  $10^{-7}$  M (B7) como  $10^{-5}$  M (B5) exhibieron un nivel de deshidratación marcadamente menor que el grupo control (C). Las diferencias fueron notorias tanto en el almacenamiento a 4 °C como al transferir a 20 °C.



**Figura 13. A) Pérdida de peso y B) electrolitos en zucchinis control (C) y tratados con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-7}$  M (B7) o  $10^{-5}$  M (B5), almacenados por 0, 11 y 18 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días (“+2”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .**

Este comportamiento resultó equiparable al encontrado en berenjena (Gao y col., 2015). La mayor pérdida de agua del grupo control respecto del tratamiento con EBR podría atribuirse a una menor integridad estructural de las membranas celulares.

En condiciones de daño por frío (DF) ocurren cambios bio-físicos en lípidos de las membranas celulares como la peroxidación lipídica, los cuales conducen a modificaciones en su estructura, fluidez y en consecuencia a la pérdida de compartimentación y liberación del contenido celular (Marangoni y col., 1996). La pérdida de electrolitos suele ser un indicio de ruptura celular, derivado de un estrés oxidativo causado por el DF. En el presente trabajo, la pérdida de electrolitos (**Figura 13B**) se vio significativamente disminuida con los tratamientos B7 y B5 durante los días 18 y 18+2 de almacenamiento, en comparación a los frutos control que mostraron el mayor contenido de electrolitos libres. Esto se asocia directamente con un mayor daño celular como consecuencia de un deterioro exacerbado en el lote C. En ese sentido, Wang y col. (2012) informaron que el tratamiento con EBR inhibió la pérdida de electrolitos en pimiento verde almacenado a 1 °C, como consecuencia de un mejor mantenimiento de la integridad tisular respecto del grupo control. Resultados similares se observaron en berenjena, tomate y mango tratados con brasinoesteroides y almacenados en condiciones en las que normalmente sufren estrés por frío (Gao y col., 2015; Aghdam y col., 2012 ; Li y col., 2012).

#### **5.2.4 Tasa respiratoria y sólidos solubles**

Independientemente del tratamiento considerado, todos los frutos exhibieron un incremento en la tasa respiratoria a lo largo del almacenamiento sin encontrarse diferencias significativas entre sí (**Tabla 4**). Hacia el final del almacenamiento (18+2 d), la tasa respiratoria no fue determinada debido al gran desarrollo de hongos, cuya respiración interfería en la medida.

**Tabla 4.** Tasa respiratoria y sólidos solubles en zucchinis control (C) y tratados con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-7}$  M (B7) o  $10^{-5}$  M (B5), almacenados por 0, 11 y 18 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días (“+2”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

		Tratamiento	Régimen de almacenamiento				
			0	11	11+2	18	18+2
Tasa respiratoria (mmol kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	C	1,14 <sup>a</sup>	2,42 <sup>cd</sup>	2,54 <sup>cd</sup>	3,19 <sup>e</sup>	nd	
	B7	1,14 <sup>a</sup>	1,72 <sup>b</sup>	2,98 <sup>de</sup>	3,23 <sup>e</sup>	nd	
	B5	1,14 <sup>a</sup>	2,40 <sup>c</sup>	2,97 <sup>de</sup>	3,24 <sup>e</sup>	nd	
Sólidos solubles (%)	C	11,8 <sup>f</sup>	8,2 <sup>e</sup>	6,1 <sup>ab</sup>	8,0 <sup>de</sup>	5,8 <sup>a</sup>	
	B7	11,8 <sup>f</sup>	8,5 <sup>e</sup>	6,9 <sup>bc</sup>	7,9 <sup>cde</sup>	5,5 <sup>a</sup>	
	B5	11,8 <sup>f</sup>	7,0 <sup>bc</sup>	7,9 <sup>cde</sup>	7,3 <sup>cd</sup>	5,4 <sup>a</sup>	

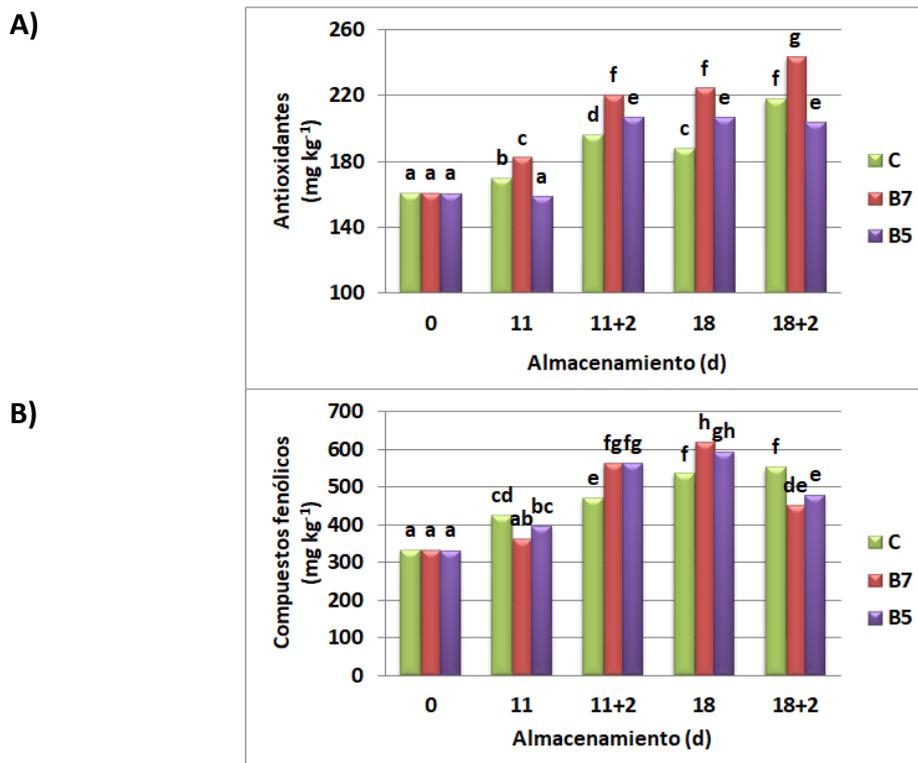
En general, se observó una tendencia decreciente en el contenido de sólidos solubles (SS) durante todo el periodo de almacenamiento a 4 °C (**Tabla 4**). El descenso de SS se vio aún más acentuado en los días 11+2 y 18+2 en los cuales los frutos fueron transferidos a 20 °C. Aun así, no se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos.

### 5.2.5 Capacidad antioxidante contra ABTS<sup>•+</sup> y compuestos fenólicos

En el presente estudio, durante todo el régimen de almacenamiento, tanto a 4 °C como al transferir los lotes a 20 °C, se observó un incremento significativo del contenido de antioxidantes en los 3 tratamientos (**Figura 14A**). Si bien el contenido de antioxidantes se ve disminuido en los últimos estadios previos a la muerte celular, se ha descrito que estos pueden acumularse durante la senescencia temprana ([Cavaiuolo y col., 2013](#)). Algunos estudios han mostrado que el nivel de fenoles totales se incrementa marcadamente en hojas senescentes ([Kar y Mishra, 1976](#)). Particularmente en nuestro estudio el tratamiento B7 acumuló mayor contenido de antioxidantes que el grupo C ya desde el día 11 de almacenamiento, y algo similar se observó con B5 a días 11+2 y 18 frente a C.

El contenido de compuestos fenólicos se incrementó durante el almacenamiento en todos los tratamientos (**Figura 14B**). La estrecha relación entre antioxidantes totales

y compuestos fenólicos, solubles en etanol sugiere que la capacidad antioxidante de los zucchinis se debe principalmente al contenido de fenoles, así como ha sido observado en frutos de similar comportamiento fisiológico como zapallito redondo y berenjena (Zaro, 2014; Massolo, 2015,). A los 11+2 y 18 d el nivel de fenoles en los frutos tratados con EBR superó al del grupo control, y en contraparte, a día 18+2 el resultado fue opuesto. Esto último podría deberse a que frente al estrés oxidativo más pronunciado en el grupo C, en este se promueve más la síntesis de compuestos fenólicos vía la enzima fenil-alanina-amonioliasa (PAL) (Stewart y col., 2001; Nguyen y col., 2003; Soleimani y col., 2016; Tomas-Barberan y Espin, 2001). A su vez, este comportamiento podría asociarse con la estimulación de respuestas de defensa contra el desarrollo de microorganismos patógenos (Kaiwen y col., 2016). Por otra parte, en este caso, no se observó un nivel de pardeamiento que justificara el descenso de fenoles observado en los frutos tratados.



**Figura 14. A)** Capacidad antioxidante contra ABTS<sup>•+</sup> y **B)** Compuestos fenólicos, en zucchinis control (C) y tratados con 24-epibrasinólido en concentraciones de 10<sup>-7</sup> M (B7) o 10<sup>-5</sup> M (B5), almacenados por 0, 11 y 18 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días (“+2”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.

Sin embargo, el consumo de compuestos fenólicos solubles puede asociarse también a la formación de lignina para generar soporte mecánico durante el envejecimiento de los tejidos vegetales (Liu y Jiang, 2006; Taiz y Zeiger, 2006). Estudios más profundos que permitan dilucidar el destino de estos compuestos son necesarios.

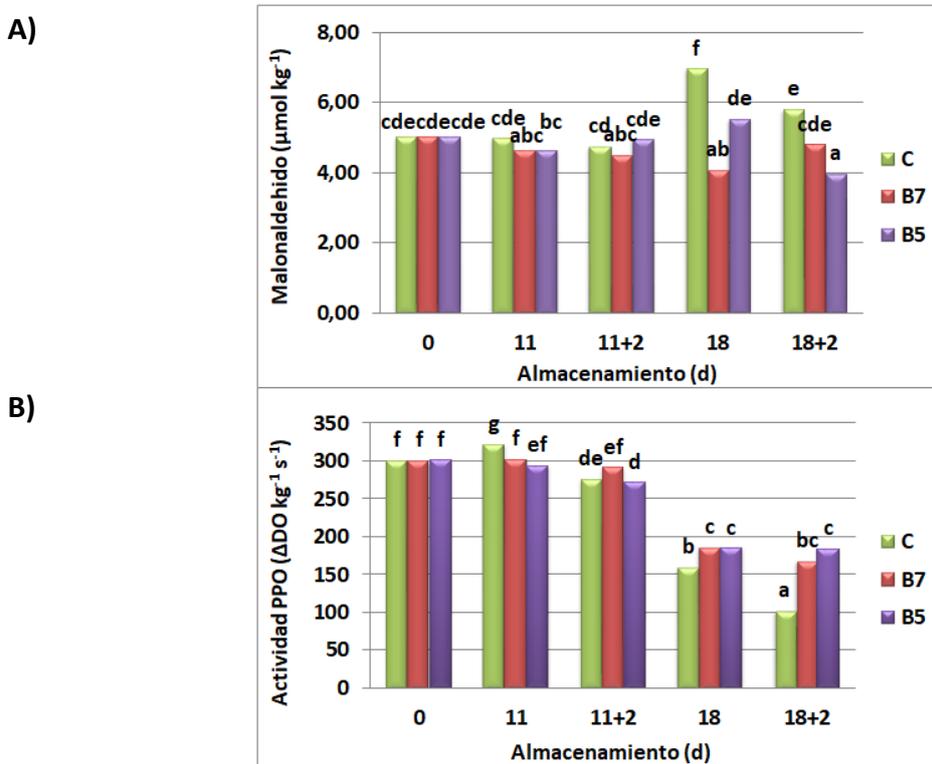
#### **5.2.6 Malonaldehído (MDA) y polifenoloxidasas (PPO)**

El daño oxidativo de tejidos celulares puede ser interpretado mediante mediciones de metabolitos y/o de enzimas que responden al estrés por bajas temperaturas. El MDA es un producto final secundario de la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados. La exposición al frío puede destruir la estructura de la membrana debido a la peroxidación lipídica, por lo que un aumento de MDA se ha considerado un marcador de lesión por frío. Diferentes autores han encontrado que el daño por frío induce la acumulación de un producto de oxidación lipídica como el MDA (Gao y col., 2015).

En nuestro trabajo pudimos observar que hacia el final del almacenamiento los tratamientos B7 y B5 mostraron menor contenido de MDA que los zucchinis control (**Figura 15A**). De aquí se intuye que los brasinoesteroides contrarrestaron en cierta medida el daño por frío. Otros autores han encontrado resultados similares. Por ejemplo, el tratamiento con EBR en plantas de pepino y semillas de berenjena puede suprimir la peroxidación lipídica y el contenido de MDA inducidos por el estrés por frío (Hu y col., 2010 ; Wu y col., 2014). En tanto, Aghdam y Mohammadkhani (2013) informaron que el tratamiento con brasinólido  $6 \times 10^{-6}$  M en tomates, redujo significativamente el contenido de MDA y en consecuencia el DF, resultado respaldado por una menor fuga de electrolitos. Wang y col. (2012) concluyeron que el tratamiento con brasinólido en pimientos verdes resultó en una disminución en el contenido de MDA e inhibió la peroxidación lipídica, mejorando la tolerancia al frío.

Adicionalmente, como respuesta al daño oxidativo generado a bajas temperaturas suele estudiarse el comportamiento de enzimas de defensa como catalasa, fenil-alanina-amonioliasa, peroxidasa y/o polifenoloxidasas (Lavania y col., 2006; Liu y col., 2013). La actividad de la enzima polifenoloxidasas (PPO), es mayormente estudiada en vegetales en los que el pardeamiento debido al DF suele ser característico. El zucchini sin embargo, no es un sistema que cuando se deteriora se

caracterice por sufrir pardeamiento, al menos en el grado en el que ocurre por ejemplo en hortalizas como papa o berenjena. En este estudio evaluamos la actividad PPO como respuesta indirecta en condiciones de daño por frío (**Figura 15B**). Los resultados mostraron que la actividad de la enzima PPO en líneas generales se mantuvo constante en la primera mitad del almacenamiento y luego disminuyó en la parte complementaria. Esta caída global podría atribuirse a una disminución en la expresión de los genes que codifican para la enzima PPO, así como han observado [Lei y col. \(2018\)](#) en un ensayo realizado en champiñón luego de almacenar 21 d a 4 °C. Los zucchinis tratados con brasinoesteroides mostraron una leve, aunque significativa mayor actividad PPO frente al control tras 18 días a 4 °C, resultado que iría en concordancia con lo observado en el contenido de MDA, es decir, a un menor estrés oxidativo. Esta menor caída de actividad PPO de B7 y B5 respecto de C podría indicar que la respuesta de la enzima resultó mayor con estos tratamientos.



**Figura 15. A)** Contenido de malonaldehído (MDA) y **B)** Actividad polifenoloxidasas (PPO), en zucchinis control (C) y tratados con 24-epibrasinólido en concentraciones de  $10^{-7}$  M (B7) o  $10^{-5}$  M (B5), almacenados por 0, 11 y 18 días a 4 °C y luego transferidos a 20 °C por 2 días (“+2”). Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

Al trasladar 3 días a 20 °C esta diferencia se incrementó, lo que puede relacionarse con el grado de avance en la pudrición de los frutos control respecto de los tratados con EBR. Uno de los roles propuestos de los productos de reacción de la enzima PPO (quinonas) es como defensa en plantas debido a su acción antimicrobiana ([Yoruk y Marshall, 2003](#)). La síntesis y acumulación de quinonas es una de los primeros síntomas en respuesta a ataques por bacterias, hongos y/o heridas.

## 6. CONCLUSIONES

-La aspersión de brócoli con 'brasinazol' (inhibidor del brasinoesteroide empleado)  $10^{-7}$  M (I7), si bien tuvo un efecto moderado en el índice de senescencia visual, redujo la pérdida de color verde, mantuvo el contenido de carotenoides, redujo la tasa respiratoria y mantuvo un mayor nivel de antioxidantes sobre el final del almacenamiento respecto de inflorescencias control (C).

***-El empleo de brasinosteroides en brócoli prácticamente no mostró diferencias frente a un control.***

***-La aplicación de un inhibidor de brasinosteroides como el brasinazol en postcosecha generó una mayor acumulación de antioxidantes y retrasó la senescencia de brócoli almacenado a 4° C con respecto al tratamiento control.***

-En zucchinis, la aplicación del brasinoesteroide en concentraciones de  $10^{-7}$  y  $10^{-5}$  M (B7 y B5) se tradujo en resultados beneficiosos en el retraso del daño por frío diferenciándose del grupo control. El tratamiento 'B7' generó los mejores resultados en aspecto y a nivel nutricional, mantuvo una mejor integridad del tejido, mostró menor contenido de metabolitos asociados a estrés oxidativo y una mayor actividad polifenoloxidasas respecto del control.

***El tratamiento con el brasinoesteroide '24-epibrasinólido'  $10^{-7}$  M en zucchini retrasó efectivamente el daño por frío, mantuvo la calidad y extendió la vida postcosecha a 4 °C respecto de frutos control. Los resultados sugieren que el BR podría utilizarse como complemento de la refrigeración para extender la vida útil y mantener los atributos de calidad de zucchini almacenado a 4 °C.***

## 7. REFERENCIAS

- Aghdam, M.S. y Mohammadkhani, N. (2013). Enhancement of chilling stress tolerance of tomato fruit by postharvest brassinolide treatment. *Food Biology Technology*, 7,909–914.
- Aghdam, M.S., Asghari, M., Farmani, B., Mohayjeji, M. y Moradbeygi, H. (2012). Impact of postharvest brassinosteroids treatment on PAL activity in tomato fruit in response to chilling stress. *Scientia Horticulturae*, 144,116-120.
- Ali, B. (2017). Practical applications of brassinosteroids in horticulture—some field perspectives. *Scientia horticulturae*, 225, 15-21.
- Andrzej, B. y Shamsul, H. (2008). Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47,1–8.
- Aprea, A.M. (2008). Cultivo de las crucíferas: brócoli y coliflor. *Boletín hortícola*, 39,29-32.
- Arnao, M.B., Cano, A., y Acosta, M. (2001). The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*, 73, 239-244.
- Artés, F., y Artés-Hernández, F. (2003). Daños por frío en la postrecolección de frutas y hortalizas. *Avances en ciencias y técnicas del frío-1*. 299-310.
- Ayala-Cartagena, Y.E. (2009). Determinación de la demanda nutrimental de nitrógeno en brócoli. Tesis doctoral. Montecillo, Texcoco, Mexico. pp. 16
- Bajguz, A., y Hayat S. (2009). Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47, 1-8.
- Bartwal, A., Mall, R., Lohani, P., Guru, S.K., y Arora, S. (2012). Role of secondary metabolites and brassinosteroids in plant. Defense against environmental stresses. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32, 216-232.
- Ben-Noun, L. (2019). Characteristics of zucchini. B.N. Publishing. Israel.
- Bernasconi, P. (1998). Auxins. En: Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Sunderland, United Kingdom. 543–590.
- Bishop, G.J., Nomura, T., Yokota, T., Harrison, K., Noguchi, T., Fujioka, S., Takatsuto, S., Jones, J.D.G., y Kamiya, Y. (1999). The tomato DWARF enzyme catalyses C-6 oxidation in brassinosteroid biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 96, 1761–1766.

- Bishop, G.J., y Koncz, C. (2002). Brassinosteroids and plant steroid hormone signaling. *The Plant Cell*, 14, 97-110.
- Bishop, G.J., y Yokota, T. (2001). Plants steroid hormones, brassinosteroids: current highlights of molecular aspects on their synthesis/ metabolism, transport, perception and response. *Plant and Cell Physiology*, 42, 114-120.
- Buchanan-Wollaston, V., Earl, S., Harrison, E., Mathas, E., Navabdour, S., Page, T., y Pink, D. (2003). The molecular analysis of leaf senescence - a genomics approach. *Plant Biotechnology Journal*, 1, 3-22.
- Cai, J., Luo, F., Zhao, Y., Zhou, Q., Wei, B., Zhou, X., y Ji, S. (2019). 24-Epibrassinolide treatment regulates broccoli yellowing during shelf life. *Postharvest Biology and Technology*, 154, 87–95.
- Cantwell, M., y Suslow, T. (1997). Calabacín. Recomendaciones para mantener la calidad postcosecha. En: [http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity\\_Resources/Fact\\_Sheets/Datastores/Vegetables\\_English/?uid=33&ds=799](http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/Datastores/Vegetables_English/?uid=33&ds=799) . Consultado el 9 de febrero de 2020.
- Cantwell, M., y Suslow, T. (2003a). Brócoli. Recomendaciones para mantener la calidad postcosecha. [http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity\\_Resources/Fact\\_Sheets/Datastores/Vegetables\\_Spanish/?uid=5&ds=803](http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/Datastores/Vegetables_Spanish/?uid=5&ds=803). Consultado el 9 de febrero de 2020.
- Cantwell, M., y Suslow, T. (2003b). Calabacín. Recomendaciones para mantener la calidad postcosecha. En: [http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity\\_Resources/Fact\\_Sheets/Datastores/Vegetables\\_English/?uid=33&ds=799](http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/Datastores/Vegetables_English/?uid=33&ds=799). Consultado el 9 de febrero de 2020.
- Cavaiuolo, M., Cocetta, G., y Ferrante, A. (2013). The antioxidants changes in ornamental flowers during development and senescence. *Antioxidants*, 2,132-155.
- CHFBA. (2005). Censo Hortiflorícola Provincia de Buenos Aires. Ministerio de Asuntos Agrarios. Provincia de Buenos Aires. Argentina. pp. 115.
- Clouse, S.D., y Sasse, J.M. (1998). Brassinosteroids: Essential Regulators of Plant Growth and Development. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 427–451.
- Clouse, S.D. (2013). Brassinosteroids. *Encyclopedia of Biological Chemistry*, 250–254.

- Colamarino, I., Curcio, N., Ocampo, F., y Torrandell, C. (2006). En la mesa de todos. Alimentos Argentinos, 33, 45-50. En: [www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/revistas/r\\_33/articulos/mesa\\_todos.htm](http://www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/revistas/r_33/articulos/mesa_todos.htm).
- Coll, D.M. (2006). Novedades acerca del mecanismo de reconocimiento y transducción de la señal brasinoesteroide. Revista CENIC Ciencias Biológicas, 2,67-72.
- Concellón, A., Añón, M.C., y Chaves, A.R. (2004). Characterization and changes in the polyphenol oxidase of eggplant fruit (*Solanum melongena* L.) during low temperature storage. Food Chemistry, 88, 17-24.
- Costa, L. (2005). Análisis de la senescencia postcosecha de brócoli - Efecto de la aplicación de tratamientos físicos”. Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata, La Plata. pp 218.
- Costa, L. (2010). Manejo postcosecha en brócoli. En: [frutihorticola.http://infofrut.com.ar/index.php?option=com\\_content&view=article&id=1078:manejo-postcosecha-en-brocoli&catid=89:hortalizas](http://frutihorticola.http://infofrut.com.ar/index.php?option=com_content&view=article&id=1078:manejo-postcosecha-en-brocoli&catid=89:hortalizas).
- Cuquerella, J., Martínez-Jávega J.M., y Jiménez-Cuesta, M. (1983). Frigoconservación de cítricos. Hoja técnica. INIA, 45, pp. 20.
- Dinkova-Kostova, A.T., y Kostov, R.V. (2012). Glucosinolates and isothiocyanates in health and disease. Trends in Molecular Medicine, 18, 337–347.
- Divi, U.K., y Krishna, P. (2009). Brassinosteroid: a biotechnological target for enhancing crop yield and stress tolerance. New Biotechnology, 26, 131-136.
- FAO. (2005). Buenas prácticas agrícolas –BPA- en la producción de tomate bajo condiciones protegidas. Manual Técnico. En: <http://www.fao.org/3/a1374s/a1374s02.pdf>. Acceso: marzo 2020.
- FAO. (2010). Buenas Prácticas Agrícolas para la Agricultura Familiar. En: <http://www.fao.org/3/i1600s/i1600s.pdf>. Acceso: noviembre 2019.
- FAO. (2011). Pérdidas y desperdicio de alimentos en el mundo. Congreso Internacional SAVE FOOD!. Interpack 2011, Düsseldorf, Alemania. pp. 34.
- FAO. (2014). Food losses and waste in the context of sustainable food systems. Fecha de consulta, septiembre de 2014. En: <http://www.fao.org/3/a-i3901e.pdf>
- FAO. (2014). Producción de productos alimentarios y agrícolas.

- FAO. (2017). Fruit and vegetables for health initiative. En: <http://www.fao.org/3/a-i6807e.pdf>. Acceso: noviembre de 2019.
- FAOSTAT. (2014). Fecha de consulta, diciembre de 2019. En: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>.
- Fernández, J. (2009). Manual Práctico de Agricultura. Barcelona, España. Taxonomía y hortalizas aprovechables por sus frutos. 606-608.
- Ferratto, J., Mondino, M., Grasso, R., Ortiz Mackinson, M., Longo, A., Carrancio, L., Firpo, I.T., Rotondo, R., Zembo, J.C., Castro, G., García, M., Rodríguez Fazzone, M., Iribarren, M.J. (2010). Buenas prácticas agrícolas para la agricultura familiar. Cadena de las principales hortalizas de hojas verdes en Argentina. Buenos Aires: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).
- Ferratto, J., y Mondino, M. (2008). Producción, consumo y comercialización de hortalizas en el mundo, pp. 3.
- Fingermann, L. (2017). Descripción de la agricultura familiar en el área hortícola de La Plata, Berazategui y Florencio Varela. La agricultura familiar en el Área Hortícola de La Plata, Berazategui y Florencio Varela. (C. Gornitzky–G.Gonaldi, ed.). INTA. Argentina. La Plata, pp. 112.
- Forouzanfar y col. (*cientos de autores*) (2015). Global, Regional, and National Comparative Risk Assessment of 79 Behavioural, Environmental and Occupational, and Metabolic Risks or Clusters of Risks in 188 Countries, 1990-2013: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*, 388, 1659-1724.
- Francis, F.J., 1995. Quality as influenced by color. *Food Quality and Preference*, 6,149-155.
- Gao H, Kang L, Liu Q, Cheng N, Wang B, y Cao W. (2015). Effect of 24-epibrassinolide treatment on the metabolism of eggplant fruits in relation to development of pulp browning under chilling stress. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 3394–3401.
- Gao, H., Zhang, Z., Lv, X., Cheng, N., Peng, B., y Cao, W. (2016). Effect of 24-epibrassinolide on chilling injury of peach fruit in relation to phenolic and proline metabolisms. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 390–397.
- García, M. (2012). Análisis de las transformaciones de la estructura agraria hortícola platense en los últimos 20 años. El rol de los horticultores bolivianos [on line]. Tesis

- doctoral. Universidad Nacional de La Plata, La Plata, 2011. [Consulta: 23 de noviembre de 2019]. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/18122>
- Gepstein, S. (2004). Leaf senescence - not just a 'wear and tear' phenomenon. *Genome Biol.* 5(3), 212. Published online, Faculty of Biology, Technion-Israel Institute of Technology, Haifa 32000, Israel.
  - González, J.L., Córdova, A., Aragón, C.E., Pina, D., Rivas, M., y Rodríguez, R. (2005). Efecto de un análogo de brasinoesteroides sobre plántulas de FHIA-18 expuestas a un estrés térmico. *InfoMusa*, 1, 18-20.
  - Graham, D. (2006). Comercialización de productos hortícolas. Guía de extensión en comercialización [en línea]. Edición: Andrew W. Shepherd. Viale delle Terme di Caracalla. Roma. Italia. [Fecha de consulta: 23/11/2019]. 5, 2-151. En: <http://www.fao.org/3/a0185s/a0185s.pdf>.
  - Hasperué, J.H., Gomez-Lobato, M.E., Chaves, A.R., y Martínez, G. (2013). Time of day at harvest affects the expression of chlorophyll degrading genes during postharvest storage of broccoli. *Postharvest Biology and Technology*, 82, 22-27.
  - Hasperué, J.H., Lemoine, M.L., Vicente, A.R., Chaves, A.R., y Martínez, G.A. (2015). Postharvest senescence of florets from primary and secondary broccoli inflorescences. *Postharvest Biology and Technology*, 104, 42-47.
  - Hatton, T.T. (1990). Reduction of chilling injury with temperature manipulation. *Chilling injury on Horticultural crops*. Florida. USA. pp. 269-280.
  - He, Y., Fukushige, H., Hildebrande, D., y Gan, S. (2002). Evidence supporting a role for jasmonic acid in Arabidopsis leaf senescence. *Plant Physiology*, 128, 876-884.
  - Hu, W.H., Wu, Y., Zeng, J.Z., He, L., y Zeng, Q.M. (2010). Chill-induced inhibition of photosynthesis was alleviated by 24-epibrassinolide pretreatment in cucumber during chilling and subsequent recovery. *Photosynthetica*, 48, 537-544.
  - Infoagro. (2002). Cultivo de Calabacín 1ª. Parte. España. En <http://www.infoagro.com/calabacin/zucchini.htm>.
  - INTA. (2017). Comercialización frutihortícola de Argentina, con especial referencia del NOA. En: [https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta-comercializacion\\_frutihorticola\\_de\\_argentina\\_con\\_especial\\_referencia\\_del\\_NOA](https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta-comercializacion_frutihorticola_de_argentina_con_especial_referencia_del_NOA).
  - Izquierdo, O.H. (2011). Actividad biológica de los brasinoesteroides y sus análogos en las plantas. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 15, 45-50.

- Izumi, H., Watada, A.E., y Douglas, W. (1996). Low O<sub>2</sub> atmospheres affect storage quality of zucchini squash slices treated with calcium. *Journal of Food Science*, 61, 317-321.
- Jacobi, K.K., Wong, L.S., y Giles, J.E. (1996). Postharvest quality of zucchini (*Cucurbita pepo* L.) following high humidity hot air disinfestation treatments and cool storage. *Postharvest Biology and Technology*, 7, 309–316.
- Jaramillo, J.N. (2007). Buenas prácticas agrícolas -BPA- en la producción de tomate bajo condiciones protegidas [on-line]. Rodríguez Viviana P., Guzman Miryam A., Zapata Miguel, Rengifo Teresita M. FAO, 2007. Colombia. [Fecha de consulta: 24/11/2019]. 15-331. En: <http://www.fao.org/3/a-a1374s.pdf>.
- Javid, M.G., Sorooshzadeh, A., Moradi, F., Modarres, S.A.M., y Allahdadi, I. (2011). The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants, 5, 726–734.
- Kader, A.A. (2002a). Postharvest technology of horticultural crops, 3ra edición. University of California. Agriculture and Natural Resources. Publication 3311,535.
- Kader, A.A. (2002b). Biología y tecnología postcosecha: Un panorama. En: *Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas 3ra Edición*. Kader, A., Pelayo-Saldivar C. (eds.). Capítulo 4. Universidad de California. Davis. 43-54.
- Kaiwen, M., Wang, S., y Kitts, D.D. (2016). Evidence to indicate that maillard reaction products can provide selective antimicrobial activity. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism*, 3, 330-335.
- Kar, M., y Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf. *Plant Physiology*, 57, 315-319.
- Khripach, V.A., Zhabinskii, V.N., y de Groot, A.E. (1999). Brassinosteroids. A new class of plant hormones. Academic Press.
- Latté, K.P., Appel, K.E., y Lampen, A. (2011). Health benefits and possible risks of broccoli – An overview. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 3287-3309.
- Lavania, M., Chauhan, P.S., Chauhan, S.V.S., Singh, H.B., y Nautiyal, C.S. (2006). Induction of plant defense enzymes and phenolics by treatment with plant growth-promoting Rhizobacteria *Serratia marcescens* NBRI1213. *Current microbiology*, 52, 363–368.

- Lee, L., Arul, J., Lenckit, R., y Castaigne, F. (1995). A review on modified atmosphere packaging and preservation of fresh fruits and vegetables: physiological basis and practical aspects-Part I. *Packaging Technology and Science*, 8, 315-331.
- Lee, L., Arul, J., Lenckit, R., y Castaigne, F. (1996). A review on modified atmosphere packaging and preservation of fresh fruits and vegetables: physiological basis and practical aspects-Part II. *Packaging Technology and Science*, 9, 1-17.
- Lei, J., Li, B., Zhang, N., Yan, R., Guan, W., Brennan, C.S., Gao, H., y Peng, B. (2018). Effects of UV-C treatment on browning and the expression of polyphenol oxidase (PPO) genes in different tissues of *Agaricus bisporus* during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 139, 99-105.
- Leja, M., Mareczek, A., Starzynk, A., y Rozek, S. (2001). Antioxidant ability of broccoli flower buds during short-term storage. *Food Chemistry*, 72, 219-222.
- Lemoine, M.L. (2009). Efecto de la aplicación de tecnologías limpias sobre la prolongación de la vida postcosecha de brócoli mínimamente procesado. Universidad Nacional de La Plata, La Plata. [Consulta: 12/10/2020]. En: [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/51601/Documento\\_completo.pdf?sequence=3](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/51601/Documento_completo.pdf?sequence=3).
- Li, B., Zhang, C., Cao, B., Qin, G., Wang, W., y Tian, S. (2012). Brassinolide enhances cold stress tolerance of fruit by regulating plasma membrane proteins and lipids. *Amino Acids*, 43, 2469–2480.
- Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382.
- Lim, P.O., Hye, R.W., y Hong, G.N. (2003). Molecular genetics of leaf senescence in *Arabidopsis*. *Trends in Plant Science*- Vol 8. N°6.
- Liu, W., Yu, K., He, T., Li, F., Zhang, D., y Liu, J. (2013). The low temperature induced physiological responses of *Avena nuda* L., a cold-tolerant plant species. *The Scientific World Journal*. pp. 7.
- Liu, Z.Y., y Jiang, W.B. (2006). Lignin deposition and effect of postharvest treatment on lignification of green asparagus (*Asparagus officinalis* L.). *Plant Growth Regulation*, 48, 187-193.

- Lucera, A., Costa, C., Mastromatteo, M., Conte, A., y Del Nobile, M.A. (2010). Influence of different packaging systems on fresh-cut zucchini (*Cucurbita pepo*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 361-368.
- Ludford, P.M. (1987). Plant hormones and their role in plant growth and development. En: Davies PJ (Ed.). Ithaca, New York, EEUU, 574-592.
- Lurie, S. (1998). Postharvest heat treatments. *Postharvest Biology and Technology*, 14, 257-269.
- Marangoni, A.G., y Palma, T.D.W. (1996). Membrane effects in postharvest physiology. *Postharvest Biology and Technology*, 7, 193-217.
- Martínez- Jávega, J.M., Mateos, M., Cuquerella, J, y Navarro, P. (1987). Improving storage life of citrus fruits by temperature management. XV. International Congress Refrigeration, 3, 321-326.
- Martínez-Jávega, J.M. (1997). La frigoconservación en naranjas y mandarinas. *Phytoma*, 90, 136-140.
- Martínez-Jávega, J.M., Cuquerella, J., Del Río, M.A., y Navarro P. (1997). Estudios de tratamientos cuarentenarios mediante bajas temperaturas en frutos cítricos. CYTED. Proyecto XI. La Habana (Cuba). Ed. C. Saucedo y R. Báez, 10, 15-23.
- Massolo, J.F. (2009). Efecto del 1-metilciclopropeno (1-mcp) sobre la calidad de hortalizas enteras y mínimamente procesadas. Trabajo final de grado, UNLP. pp. 47.
- Massolo, J.F. (2015). Evaluación del uso de reguladores vegetales y de estrategias de procesamiento para reducir el deterioro post-cosecha de zapallitos. Tesis doctoral. pp. 184.
- Mazliak, P. (1992). Les effets du froid sur les biomembranes. En: Les végétaux et le froid. Ed. D. Côme. Edit. Hermann, 1, 3-26.
- Müssig, C., y Altmann, T. (1999). Physiology and molecular mode of action of brassinosteroids. *Plant Physiology and Biochemistry*, 37, 363–372.
- Nguyen, T.B.T., Ketsa, S., y van Doorn, W.G. (2003). Relationship between browning and the activities of polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. *Postcosecha Biology and Technology*, 30, 187-193.
- OMS. 2019. Aumentar el consumo de frutas y verduras para reducir el riesgo de enfermedades no transmisibles.

- [https://www.who.int/elena/titles/fruit\\_vegetables\\_ncds/es/](https://www.who.int/elena/titles/fruit_vegetables_ncds/es/). Acceso: noviembre de 2019.
- OMS/FAO. (2003). Fruit, vegetables and NCD disease prevention. [https://www.who.int/dietphysicalactivity/media/en/gsfv\\_fv.pdf](https://www.who.int/dietphysicalactivity/media/en/gsfv_fv.pdf). Acceso: 11/2019.
  - Pintos, F.M., Hasperué, J.H., Vicente, A.R., y Rodoni, L.M. (2020). Postharvest Biology and Technology. Role of white light intensity and photoperiod during retail in broccoli shelflife, 163, 111-121.
  - Pogson, B.J., y Morris, S.C. (1997). Consequences of cool storage of broccoli on physiological and biochemical changes and subsequent senescence at 20 C. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 122, 553-558.
  - Pomares-Viciano, T., Martínez-Valdivieso, D., Font, R., Gómez, P., y Del Río-Celestino, M. (2018). Characterization and prediction of carbohydrate content in zucchini fruit using near infrared spectroscopy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98, 1703-1711.
  - Ren, K., Tu, K., Pan L., y Chen, Y. (2005). Kinetic modelings of broccoli color changes during chilled storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 30, 180-193.
  - Ruano, S. (2009). *Enciclopedia Práctica de la Agricultura*. Barcelona, España. Taxonomía de hortalizas. pp. 606.
  - Saglam-Çag, S. (2007). The effects of epibrassinolide on senescence in wheat leaves. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 21,63-65.
  - Saini, S., Sharma, I., y Pati, P.K. (2015). Versatile roles of brassinosteroid in plants in the context of its homeostasis, signaling and crosstalks. *Frontiers in Plant Science*, 6, 950.
  - Salgado, R., Cortés, M.A., y Del Río, R.E. (2008). Uso de brasinoesteroides y sus análogos en la agricultura. México. *Biológicas*, 10, 18-27.
  - Salveit, M. (2004). Respiratory metabolism. The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks. *Agriculture Handbook Number 66*. <http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/019respiration.pdf>
  - Seeta, S., Vidya, B., Sujatha, E., y Anuradha, S. (2002). Brassinosteroids: a new class of phytohormones. *Current Science*, 10, 1239-1245.

- SENASA, 2018. Hortalizas: informes y estadísticas. En: <http://www.senasa.gob.ar/cadena-vegetal/hortalizas/informacion/informes-y-estadisticas>.
- Serrano, M., Martínez-Romero, D., Guillen, F., Castillo, S., y Valero, D. (2006). Maintenance of broccoli quality and functional properties during cold storage as affected by modified atmosphere packaging. *Postharvest Biology and Technology*, 39, 61-68.
- Serrano, M., Pretel, M.T., Martínez-Madrid, M.C., Romojaro, F., y Riquelme, F. (1998). CO<sub>2</sub> treatment of zucchini squash reduces chilling-induced physiological changes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2465-2468.
- Sevillano, L., Sanchez-Ballesta, M.T., Romojaro, F., y Flores, F.B. (2009). Physiological, hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species. Postharvest technologies applied to reduce its impact. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 555-573.
- Singleton, V., Orthofer, R., y Lamuela-Raventos, R. (1999). Analysis of total phenols and others oxidation substrates and oxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Soleimani Aghdam M., Babalar M., y Askari Sarcheshmeh, M.A. (2016). Impact of brassinosteroids on postharvest physiology of fruits and vegetables. *Eco-Friendly Technology for Postharvest Produce Quality*, 203–218.
- Stewart, R.J., Sawyer, B.J.B., Bucheli, C.S., y Robinson, S.P. (2001). Polyphenol oxidase is induced by chilling and wounding in pineapple. *Australian Journal of Plant Physiology*, 28, 181–191.
- Sun T., Yuan H., Cao, H., Yazdani, M., Tadmor, Y., y Li, L. (2018). Carotenoid metabolism in plants: The role of plastids. *Molecular Plant*, 11, 58-74.
- Suslow, T.V, y Cantwell, M. (2003). Squash (soft rind): recommendations for maintaining postharvest quality. En: <http://postharvest.ucdavis.edu/pfvegetable/Squash>. Última actualización: 6 de junio, 2003.
- Symons G.M., Davies, C., Shavrukov, Y., Dry, I.B., Reid, J.B., y Thomas, M.R. (2006). Grapeson steroids. Brassinosteroids are involved in grape berry ripening. *Plant Physiol*, 140, 150–158.

- Taiz, L., y Zeiger, E. (2006). Secondary Metabolites and Plant Defense. Plant Physiology, Fourth Edition En: Taiz, L. and Zeiger, E (eds). Sinauer Associates, Inc.
- Toivonen, P. (2011). Postharvest Physiology of Vegetables. En: Handbook of Vegetables and Vegetable Processing, Sinha, N. (ed.), Wiley-Blackwell, 199-215.
- Toivonen, P., y Sweeney, M. (1998). Differences in chlorophyll loss at 13 C for two broccoli (*Brassica oleracea* L.) cultivars associated with antioxidant enzyme activities. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 20-24.
- Tomas-Barberan, F.A., y Espin, J.C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. Journal of the Science of Food and Agriculture, 81, 853-876.
- Urdangarin, C. (2019). Brócoli, la hortaliza que crece en producción y consumo en el mundo y la Argentina. [Fecha de acceso: 23/11/2019]. En: <https://agrolinkweb.com.ar/brocoli-la-hortaliza-que-crece-en-produccion-y-consumo-en-el-mundo-y-la-argentina/>
- Van Rijswijk, C. (2018). Journal of International Food & Agribusiness Marketing. En: [https:// research.rabobank.com/far/en/sectors/regional-food-agri/world\\_vegetable\\_map\\_2018.html](https://research.rabobank.com/far/en/sectors/regional-food-agri/world_vegetable_map_2018.html)
- Wada, K., y Marumo, S. (1981). Synthesis and plant growth-promoting activity of brassinolide analogs. Agricultural and Biological Chemistry, 45, 2579-2586.
- Walter, W.M., Epley, D.G., y McFeeters, R.F. (1990). Effect of water stress on stored pickling cucumbers. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 38, 2185-2191.
- Wang, C.Y. (1995). Effect of temperature preconditioning on catalase, peroxidase, and superoxide dismutase in chilled zucchini squash. Postharvest Biology and Technology, 5, 67-76.
- Wang, C.Y. (1996). Temperature preconditioning affects ascorbate antioxidant system in chilled zucchini squash. Postharvest Biology and Technology, 8, 29-36.
- Wang, Q., Ding, T., Gao, L., Pang, J., y Yang, N. (2012). Effect of brassinolide on chilling injury of green bell pepper in storage. Scientia Horticulturae, 144, 195–200.
- WHO/FAO. (2003). Who technical report series 916: diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. World Health Organization. Technical Report Series.

- WITS. (2018). World vegetable exports by country. En: [https://wits.worldbank.org/CountryProfile/en/Country/WLD/Year/LTST/TradeFlow/Export/Partner/by-country/Product/06-15\\_Vegetable](https://wits.worldbank.org/CountryProfile/en/Country/WLD/Year/LTST/TradeFlow/Export/Partner/by-country/Product/06-15_Vegetable)
- Workneh, T.S., y Osthoff, G. (2010). A review on integrated agro-technology of vegetables. *African Journal of Biotechnology*, 9, 9307-9327.
- Wu, X.X., He, J., Zhu, Z.W., Yang, S.J., y Zha, D.S. (2014). Protection of photosynthesis and antioxidative system by 24-epibrassinolide in *Solanum melongena* under cold stress. *Biologia Plantarum*, 58, 185–188.
- Yoruk R, y Marshall MR. 2003. Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review. *Journal of Food Biochemistry*. 27, 361-422.
- Zaharah, S.S., Singh, Z., Symons, G.M., y Reid, J.B. (2012). Role of brassinosteroids, ethylene, abscisic acid, and indole-3-acetic acid in mango fruit ripening. *Journal of Plant Growth Regulation*, 31, 363–372.
- Zaro, M. J., Chaves, A. R., Vicente, A. R., Concellón, A. (2014). Distribution, stability and fate of phenolic compounds in white and purple eggplants (*Solanum melongena* L.). *Postharvest biology and technology*, 92, 70-78.
- Zheng, Y., Fung, R.W.M., Wang, S.Y., y Wang, C.Y. (2008). Transcript levels of antioxidative genes and oxygen radical scavenging enzyme activities in chilled zucchini squash in response to super-atmospheric oxygen. *Postharvest Biology and Technology*, 47, 151–158.
- Zhu, T., Tan, W., Deng, X., Zheng, T., Zhang, D., y Lin, H. (2015a). Effects of brassinosteroids on quality attributes and ethylene synthesis in postharvest tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 100, 196–204.
- Zhu, F., Yun, Z., Ma, Q., Gong, Q., Zeng, W., Juan, Xu., Cheng, Y., y Deng, X. (2015b). Effects of exogenous 24-epibrassinolide treatment on postharvest quality and resistance of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu*). *Postharvest Biology and Technology*, 100, 8–15.
- Zullo, M.A.T., y Adam, G. (2002). Brassinosteroid phytohormones structure, bioactivity and applications. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 14, 143-181.