



Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Trabajo Final de la carrera Ingeniería Agronómica

“Evaluación del uso de pulsos de luz como tecnología para retrasar la senescencia postcosecha de brócoli”

Alumna: Favre Martinez, Noelia Belen .

DNI: 35631180

Legajo N°: 26564/4

Email: favremnoelia@gmail.com

Directora: Dra. Costa Lorenza

Codirector: Ing.Vera Bahima José

La Plata, Octubre de 2018

RESUMEN	2
I. INTRODUCCIÓN.....	3
I.I. Generalidades de Brócoli	3
I.II.Senescencia y “Senescencia postcosecha”	13
I-III- Tecnologías postcosecha en Brócoli.....	14
I.IV Efecto de la luz en postcosecha	14
I.V. Hipótesis y Objetivos.....	17
II. MATERIALES Y METODOS	18
Experimento I: Selección del tratamiento adecuado.....	18
Experimento II: Análisis del efecto del tratamiento con pulsos de luz roja sobre el metabolismo de hidratos de carbono y de proteínas durante la senescencia postcosecha de brócoli.	21
III. RESULTADOS	22
III.I. Experimento I.....	22
III.II. Experimento 2	28
IV. DISCUSION	33
IV.I. Selección del tratamiento adecuado para retrasar la senescencia.	33
IV.II. Mecanismos fisiológicos involucrados en el retraso de la senescencia mediante la aplicación de pulsos de luz.....	36
V. CONCLUSION	40
VI. BIBLIOGRAFIA	42

RESUMEN

Los tratamientos postcosecha con luz visible de baja intensidad han comenzado a utilizarse en los últimos años como tecnología para retrasar la senescencia postcosecha de vegetales verdes. En este trabajo hemos estudiado la posibilidad de utilizar pulsos de luz visible de baja intensidad como tecnología postcosecha para retrasar la senescencia de brócoli almacenado a temperatura ambiente y hemos investigado sobre cuál es el mecanismo fisiológico que podría explicar el retraso de la senescencia mediado por los pulsos de luz. En una primera etapa encontramos que pulsos diarios de 2 h con 20–25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz blanca resultaron efectivos para retrasar el amarillamiento de las cabezas de brócoli y retener los componentes del cloroplasto (clorofilas y proteínas). La intensidad de la luz utilizada no fue suficiente para revertir la fotosíntesis ya que el contenido de azúcares totales fue menor en todas las muestras tratadas con luz respecto al valor inicial, es decir no hubo síntesis neta de azúcares (fotoasimilados). Sin embargo observamos que los azúcares reductores se consumieron a menor velocidad en las muestras tratadas con luz respecto a las almacenadas en oscuridad. En una segunda etapa analizamos si el retraso de la senescencia postcosecha de brócoli depende de la calidad de luz utilizada. El efecto sobre los azúcares fue el mismo independientemente de la luz utilizada, blanca, roja o rojo lejano. Con respecto a la degradación de clorofilas y proteínas solubles (componentes del cloroplasto) el efecto del tratamiento con luz roja fue similar al tratamiento con luz blanca mientras que con luz rojo lejano se observaron resultados similares a los controles en oscuridad. Este resultado es una respuesta típica de los procesos fisiológicos en los que participan los fitocromos, con luz roja se activan y con luz rojo lejano se desactivan. Por lo tanto podemos sugerir que los fitocromos están involucrados en el retraso de la senescencia mediado por la luz. Finalmente, dado que para algunos parámetros, retención de proteínas solubles por ejemplo, el efecto de la luz blanca fue mayor que el efecto de la luz roja, debemos considerar que hay otros fotoreceptores que también estarían involucrados.

Palabras claves: Senescencia postcosecha, luz blanca, luz roja, fotoreceptores

I. INTRODUCCIÓN

I.I. Generalidades del Brócoli

Origen

El brócoli es una hortaliza originaria de la región del Mediterráneo Oriental, concretamente de Asia Menor (Libia, Siria). Se cree que esta hortaliza proviene de una especie silvestre común de las coles y que a través de un continuo proceso de selección por el hombre adquirió la morfología actual. En el siglo XVI, el cultivo de brócoli para consumo habría llegado a la Península Itálica, pero fue recién a mediados del siglo XX, cuando su producción se desarrollaría en distintos países de Europa (www.regmurcia.com, 2018).

Valor nutritivo

El brócoli pertenece a la familia de las Brassicaceae (Crucíferas) y su nombre científico es *Brassica oleracea* L., var. *itálica* Plenck. Forma parte de las hortalizas comúnmente denominadas coles (repollo, repollitos de Bruselas, coliflor, entre otros), las que se consideran alimentos funcionales debido a su alto contenido de antioxidantes y glucosilanos que les otorgan propiedades anticancerígenas (Jeferry et al., 2003). El consumo de brócoli fresco en los últimos años ha aumentado considerablemente en muchas partes del mundo debido a su alto contenido nutricional. Posee bajo contenido calórico, alto contenido de fibra dietética, altos niveles de ácido ascórbico y compuestos anticancerígenos y antioxidantes (King y Morris, 1994), Tabla 1.

Tabla 1: Valor nutricional de brócoli. Adaptado de Gebhardt y Matthews, 1988. Fuente: "Análisis de la senescencia postcosecha de brócoli- Efecto de tratamientos físicos", Tesis doctoral, Lorenza Costa, 2005.

Valor nutricional del brócoli por 100 g de producto comestible	
Proteínas(g)	5.35
Ípidos(p)	0.3
Glúcidos (g)	4.86
Vitamina A (U.I)	3.500
Vitamina B1 (mg)	100
Vitamina B2 (mg)	210
Vitamina C (mg)	118
Calcio (mg)	130
Fósforo (mg)	76
Hierro(mg)	1.3
Calorías (cal)	42-32

Producción y Consumo

Según datos aportados por el “Boletín situacional de brócoli” del año 2014, del Ministerio Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca de México, la producción mundial de brócoli muestra una tendencia en alza, que se evidencia a lo largo del período 2000 - 2014, registrando en los años 2013 y 2014 el volumen más alto de producción, 22.278.858 t (figura 1).

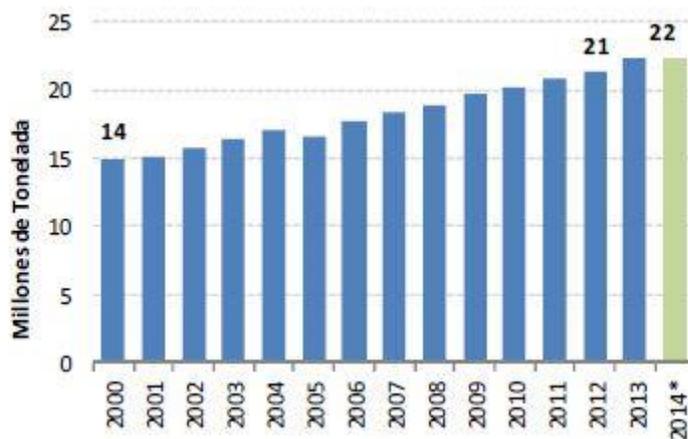


Figura 1: Producción mundial de brócoli desde el año 2000 al 2014. Datos Estimados. Figura tomada del “Boletín Situacional de Brócoli”, 2014.

El principal país productor es China con el 41.20%, seguido por India con el 35.40%, España con el 2.43%, México 2.16%, Italia con el 1.71% y Francia con el 1.52%. El 15.58% restante de la producción corresponde a 86 países del resto del mundo (figura 2).

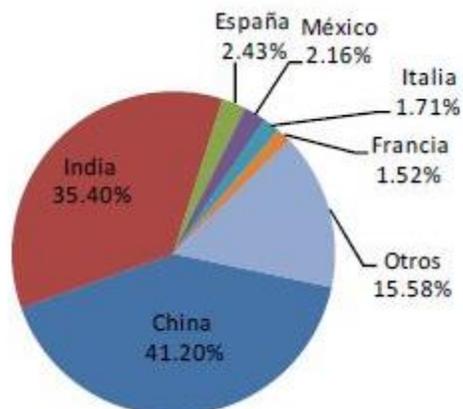


Figura 2: Participación de producción mundial de brócoli para el año 2014. Datos Estimados. Tomada del “Boletín Situacional de Brócoli, 2014”.

El principal país exportador a nivel mundial es España con 29.03%, seguido por México con el 14.44% y Francia con el 11.38%. Otros países exportadores de gran importancia son Estados Unidos con el 10.00%, China con el 7.24% e Italia con el 5.09% (figura 3).

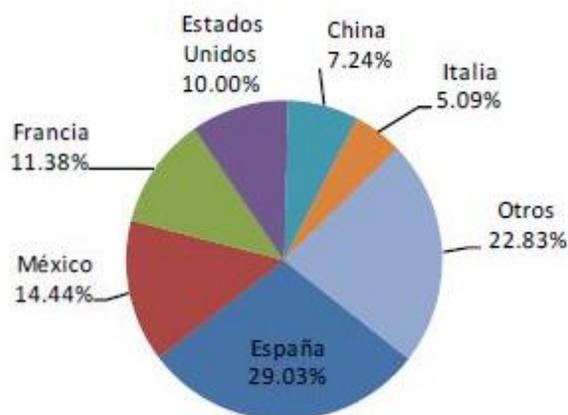


Figura 3: Participación de exportaciones mundiales de brócoli para el año 2014. Tomada del "Boletín Situacional de Brócoli",2014.

En Argentina, según un informe de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca, Alimentos y Forestación (SAGPyA) (Colamarino et al., 2006), las provincias que más se destacan por su producción hortícola, ordenadas de mayor a menor superficie, según el Censo Nacional Agropecuario (2002) son Buenos Aires (19,7% del total), Mendoza (15,0%), Córdoba (10,4%), Santiago del Estero (6,8%), Misiones (5,7%) y Corrientes (4,9%).

La producción de brócoli en Argentina, debido a su alta perecibilidad, se realiza generalmente cerca de los centros urbanos, con acceso rápido al mercado. En el Censo Provincial Hortiflorícola del año 2005 se estimó que en la Provincia de Buenos Aires se cultivaban cerca de 366 hectáreas de brócoli, de las cuales 106 hectáreas pertenecían al Partido de La Plata, donde el cultivo se realizaba tanto bajo cubierta como a campo (figura 4).

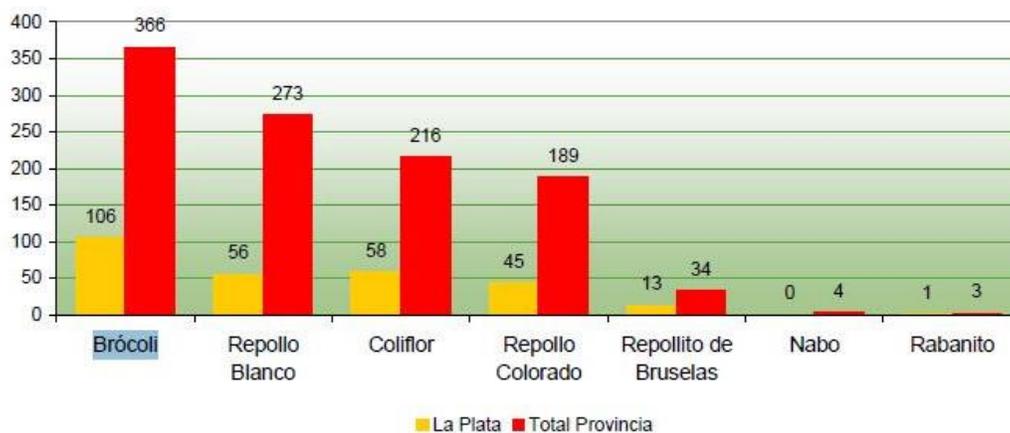


Figura 4: Superficie en hectáreas de crucíferas por cultivo en La Plata y provincia de Buenos Aires. En el eje Y se grafican las hectáreas. Censo Provincial Hortiflorícola de la Provincia de Buenos Aires. 2005.

Características morfológicas

Se trata de un cultivo de plantas anuales o perennes donde la raíz es pivotante poco profunda, leñosa, con raíces secundarias y superficiales, formando una cabellera ramificada y superficial. El tallo es relativamente grueso (3-6 cm diámetro) de 20 a 80 cm de alto en el que se disponen las hojas de forma helicoidal, con entrenudos cortos. La plántula tiene un aspecto arrosado en sus inicios, pero luego los entrenudos se van elongando. Las hojas son grandes, glabras, de coloración verde grisácea azuladas, pueden alcanzar los 40 a 50 cm de largo, lobuladas, con bordes ondulados, partidos, pinatisectas y largamente pecioladas (figura 5) (Del Pino, 2014). El tallo principal termina en una masa globosa de yemas hipertrofiadas, formadas por las inflorescencias, con las flores dispuestas en un corimbo principal o primario, denominado pan, pellas o "ramillete" que es el órgano de consumo. En el ramillete podemos distinguir los pedúnculos, pedicelos y sépalos (figura 6). Las flores de brócoli son pequeñas, en forma de cruz, con pétalos de color amarillo y el fruto es una silicua de valvas ligeramente convexas con un solo nervio longitudinal. Produce abundantes semillas redondas y de color rosáceo. Son plantas alógamas con polinización cruzada. Posee incompatibilidad con su propio polen. En 1 gramo pueden contenerse alrededor de 350 semillas, con una longevidad promedio de unos 4 años (Del Pino, 2014).



Figura 5: Cultivo de brócoli a campo. Fuente: www.agroboca.com/especies-frutas-verduras/brocoli)

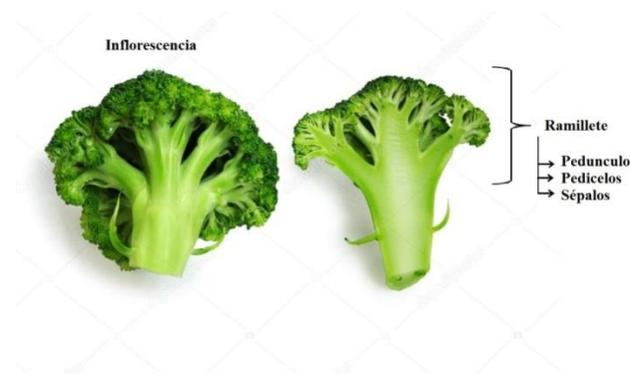


Figura 6: Inflorescencia de brócoli y sus partes.

Características fisiológicas

La mayoría de los cultivares de brócoli presentan un ciclo de vida anual bajo las siguientes fases:

1. Fase Juvenil: Se inicia con la emergencia de los cotiledones, y se caracteriza porque a lo largo de este período la planta sólo forma hojas y raíces. En general el intervalo óptimo de germinación para brócoli se establece entre 20 y 30 °C. La duración de este período juvenil y el ritmo en la formación de hojas varían con los cultivares.
2. Fase de Inducción Floral: El brócoli puede caracterizarse como una especie vernalizante facultativa, aunque existen cultivares que se comportan como vernalizantes obligados. Es decir que sin la acción de las bajas temperaturas, no tienen capacidad de

formar cogollo o cabeza, ni la aptitud para reproducirse. Con temperaturas superiores a 10°C estas especies no son capaces de formar una verdadera inflorescencia. La concurrencia de altas temperaturas en pleno período de inducción o posterior, puede tener efecto desvernalizante.

3. Fase de Formación de Cogollo de preinflorescencias o inflorescencias: En esta etapa, tras haber sido la planta inducida a floración, deja de formar nuevas hojas y las ya formadas, presentan una tasa de crecimiento menor. La mayor parte de las sustancias de reserva elaboradas por las hojas, son movilizadas hacia el meristema de crecimiento apical que sufre una serie de transformaciones y multiplicaciones que conducen a la formación del cogollo (cabeza apretada de la inflorescencia). En esta etapa no se observa dominancia apical de la inflorescencia, ni elongación alguna de los pedúnculos.

4. Fase de Floración: En brócoli la floración es una fase bastante inmediata. De ahí que en plena recolección de brócoli es frecuente observar alguna flor abierta, es muy común verlo cuando no se cosecha con la frecuencia adecuada.

5. Fase de Polinización y Fructificación: La polinización es cruzada y entomófila. Las semillas son aptas para germinar desde su recolección.

Las distintas variedades comerciales según la duración de su ciclo (días transcurridos desde la fecha de trasplante a la recolección) hacen posible la clasificación en:

a. Variedades de ciclo corto: Presentan una duración en el ciclo inferior a los 80 - 90 días, las hay incluso con ciclos de 40 - 45 días y son de recolección estival y otoñal.

b. Variedades de ciclo largo: El ciclo en éstas es superior a los 120 días, se adaptan muy bien a ser recolectadas en los meses más fríos (invierno).

En cuanto a la época de producción, son denominados como "PRECOCES", "INTERMEDIOS" y "TARDIOS".

La mayor parte de las variedades de brócoli existentes hoy en el mercado son híbridos, ya que se han dejado de usar las variedades de polinización abierta (Del Pino, 2014).

Características de producción

Inicio del cultivo

En nuestro país se inicia por almácigo y trasplante. Si bien es un cultivo que tolera muy bien el trasplante a raíz desnuda, por el costo de la semilla el almácigo se realiza en bandejas tipo *speedlings*. La época de trasplante depende de la época de producción

(figura 7). Los marcos de plantación dependen del tamaño del cultivar, pero varían entre líneas o surcos de 0,7 a 0,8 m y de 0,35 a 0,45 m entre plantas.

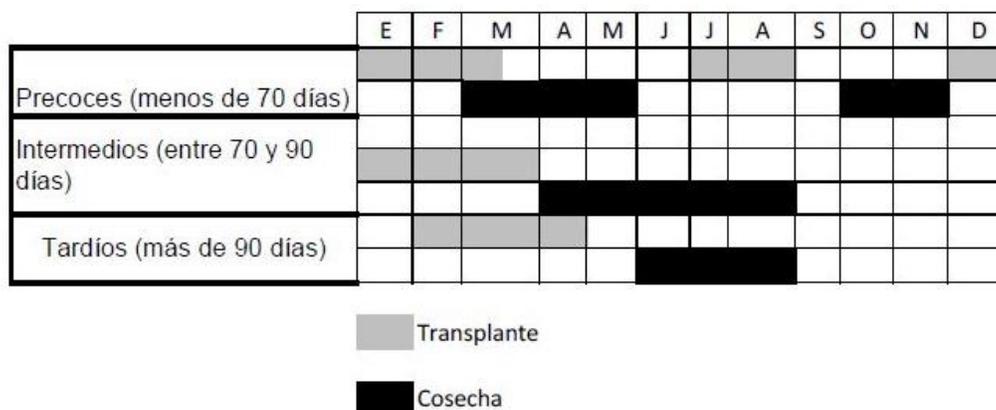


Figura 7: Época de trasplante y cosecha, Guía Brócoli, FCAyF, UNLP, 2014.

Requerimientos de cultivo

Es un cultivo de desarrollo fundamentalmente durante las estaciones de otoño e invierno, aunque existen cultivares desarrollados para altas temperaturas también. Para un desarrollo normal de la planta es necesario que las temperaturas durante la fase de crecimiento oscilen entre 20 y 24°C; para poder iniciar la fase de inducción floral necesita entre 10 y 15°C durante varias horas del día. La planta y la pella no suelen helarse con temperaturas cercanas a 0° C, cuando su duración es de pocas horas del día. La humedad relativa óptima oscila entre 60 y 75%. Prefiere suelos con tendencia a la acidez y no a la alcalinidad, estando el óptimo de pH entre 6,5 y 7. Requiere suelos de textura media. No soporta la salinidad excesiva del suelo y del agua de riego. Las semillas de brócoli necesitan para germinar temperaturas mínimas de 5 ° C, su óptima está en 26,5 ° C. Las temperaturas óptimas de crecimiento son de 16 ± 1,5 ° C, la máxima de 30 ° C y la mínima de 4 ° C. Para el desarrollo vegetativo necesita temperaturas de 15 ° C a 25 ° C y para el desarrollo de las inflorescencias de 5 a 15 ° C (Del Pino, 2014).

El brócoli es un cultivo muy exigente en nutrientes, nitrógeno y fósforo principalmente, para conseguir un buen desarrollo. Los requerimientos de nitrógeno del cultivo se calculan a partir de un análisis del contenido de nitrógeno del suelo y teniendo en cuenta el aporte de nitrógeno por mineralización del mismo. Se recomienda una dosis de 22-34Kg/ha preplantación o en plantación y luego una aplicación cuando el cultivo se encuentra en la etapa de desarrollo. En cuanto al fósforo se recomienda la siembra de brócoli en suelos

que contengan alrededor de 50 ppm del mismo; en caso de tener una concentración menor se recomienda aplicar entre 45-90 Kg/ha. En menor medida se fertiliza con potasio y zinc (Cantwell y col, 1996)

Adversidades

Plagas

En el cultivo de brócoli, las plagas no son una problemática muy importante; sin embargo se pueden encontrar:

- *Pulgón (Brevicoryne brassicae y Myzus persicae)*
- *Trips*
- *Minadores (Lyriomiza sp.)*
- *Mosca blanca (Trialeurodes vaporariorum y Bemisia tabaci).*

Fisiopatías

- El cultivo de brócoli es muy sensible a las temperaturas extremas.

Las temperaturas elevadas afectan el cultivo, produciendo las siguientes fisiopatías:

- ✓ Aparición de hojas bracteiformes en el interior del cogollo prefloral
- ✓ Formación prematura de cogollos preflorales
- ✓ Apertura prematura del cogollo prefloral
- ✓ Deformaciones en las inflorescencias: pellas irregularmente onduladas o bien abriendo excesivamente algunos brotes florales
- ✓ Granos marrones: botones florales marrones y posterior desprendimiento de las inflorescencias

Las heladas y bajas temperaturas afectan a las inflorescencias más jóvenes, congelándolas o produciendo daño a temperaturas por debajo de - 1,1 °C.

- Una de las fisiopatías más comunes en el brócoli, es el amarillamiento de las inflorescencias debido a la sobremaduración, deshidratación y senescencia.
- También se observan fisiopatías por desórdenes nutricionales como:
 - ✓ *Exceso de nitrógeno:* puede causar un crecimiento en forma rápida, puede ser responsable de la aparición de zonas ahuecadas en los tallos y tálamos florales. Otros factores que pueden incidir en este ahuecado de los tallos pueden ser un marco de plantación demasiado amplio o una elevada temperatura que propicie un crecimiento muy rápido de las plantas.

- ✓ *Carencia de boro*: aparecen en los pecíolos de las hojas manchas corchosas, escaso desarrollo radical y manchas necróticas en las pellas. Este desorden nutricional puede ser relativamente frecuente en suelos alcalinos.
- ✓ *Carencia de molibdeno*: produce un desarrollo anormal de los limbos foliares que en casos extremos puede dejar reducidas las hojas al nervio central. Muchas plantas no dan producción o forman pellas muy pequeñas. Esta carencia suele presentarse más frecuentemente en suelos con pH ácidos (Guía Brócoli, FCAyF, UNLP, 2014)

Cosecha

Para el consumo de brócoli se cosechan las inflorescencias inmaduras. Se puede cosechar de forma manual o mecanizada, siendo la primera forma la más utilizada. Esta, se realiza con cuchillo sobre el pedúnculo que sostiene la pella principal (cabeza central) con un tallo de 5 a 10 cm. Luego de la cosecha de la cabeza central, al romperse la dominancia apical, se produce un crecimiento secundario, que puede ser comercializado si las condiciones ambientales fueron favorables (Stoppani y Francescangeli, 2000). El brócoli de buena calidad debe tener las inflorescencias cerradas y de color verde, compactas (firme a la presión de la mano) y el tallo bien cortado y de la longitud requerida. Las producciones varían según se trate de brócolis de pella principal o de rebrotes, además del tipo de variedad. Pero pueden estimarse unos rendimientos normales entre 15.000 y 35.000 kg/ha.

Características y Manejo Postcosecha

Las enfermedades más comunes en el cultivo de brócoli presentadas en el Manejo postcosecha de brócoli del Mercado Central son:

- Podredumbre blanda bacteriana (*Erwinia carotovora*): Aparece como un ablandamiento acuoso o manchas grasosas en los tallos o en los pimpollos. El decaimiento tiene un olor pútrido.
- Mancha bacteriana: Esta enfermedad se caracteriza por lesiones, de menos de 1,5 cm de diámetro, marrón cuero a claro, volviéndose más oscuro con el tiempo. Las lesiones están divididas en zonas y pueden aparecer sobre cualquier parte del tallo. Las zonas infectadas están firmes y flexibles y solo ligeramente blandas.

- Podredumbre gris mohosa (*Botrytis cinerea*): Se producen áreas verdosas, amarronadas, acuosas y blandas. Un moho blanco puede aparecer sobre la superficie de las manchas más grandes y en estados avanzados las áreas se tornan verdosas - amarronadas; los tejidos enfermos no tienen olor.

- Podredumbre blanda acuosa (*Sclerotinia sclerotiorum*): Los tejidos afectados están a menudo cubiertos con un micelio blanco algodonoso. Los tejidos con decaimiento en realidad producen humedad pero con olor desagradable. El hongo forma un compacto y vigoroso crecimiento que se extiende de una cabeza a otra y envuelven a ellas en su micelio.

El brócoli es un producto muy perecedero, puede ser almacenado sólo por un breve período. La tasa de respiración del brócoli recién cosechado es muy alta ya que para el consumo de brócoli se cosechan las inflorescencias inmaduras, por lo que se trata de un tejido vegetal en activo crecimiento. La cosecha induce rápidamente el proceso de senescencia en estos tejidos inmaduros, ya que además del estrés ocasionado por el corte, los tejidos quedan desprovistos de toda fuente de energía, nutrientes y hormonas (King y Morris, 1994). La tasa de producción de etileno de brócoli es muy baja pero es una hortaliza extremadamente sensible a esta hormona, ya que es aceleradora de la senescencia y su efecto más característico es que acelera notablemente el amarillamiento de las inflorescencias. El contacto con 2 ppm de etileno a 10°C reduce la vida en un 50%. El tiempo de almacenamiento depende fundamentalmente de las condiciones de temperatura y humedad que se utilizan. Se requiere una temperatura de 0°C y una HR >95% para lograr una vida de almacenamiento de 21-28 días, pero si la temperatura de almacenamiento es de 5°C la vida útil es de 14 días y cuando se almacena a 10°C es de sólo 5 días (Toivonen y Forney, 2016).

El uso de atmósferas controladas es ampliamente recomendado para brócoli. Cuando se almacena brócoli en una atmósfera con bajo nivel de O₂ (1%), alto CO₂ (10%) se logra retrasar el amarillamiento de las inflorescencias, pero se debe controlar cuidadosamente el nivel de oxígeno ya que se ha reportado que niveles extremadamente bajos del mismo ocasionan olores extraños (Del Pino, 2014).

En general no se hacen recomendaciones respecto a la luz, sólo que es conveniente el almacenamiento sin iluminación porque generalmente los sistemas de iluminación aumentan la temperatura del ambiente y esto favorece el deterioro postcosecha de los productos (Cantwell et al., 2013).

I.II. Senescencia y “Senescencia postcosecha”

Senescencia en plantas

Como concepto general, podemos definir la senescencia de plantas como un proceso fisiológico, de desmantelamiento del aparato fotosintético y removilización de los nutrientes hacia otras partes de la planta en activo crecimiento (Costa et al., 2013a). Esta etapa precede a la muerte del individuo o del órgano. Dado que la senescencia es parte del programa de desarrollo de una planta, se trata de un proceso programado genéticamente y que está regulado por numerosos factores tanto endógenos como ambientales (He, et al., 2001).

En la bibliografía más reciente encontramos que se define el comienzo de la senescencia cuando un tejido deja de ser un “destino” dentro de la planta y comienza a ser “fuente”. Un “destino” es un tejido fotosintéticamente activo y por lo tanto recibe nutrientes que serán asimilados y transformados en componentes celulares; una “fuente” es un tejido que como ha perdido la capacidad de realizar fotosíntesis, comienza a degradar todos sus componentes celulares, las macromoléculas se degradan en sus componentes sencillos que podrán ser exportados hacia otras partes de la planta que los utilizará (Masclaux-Daubresse et al, 2016)

Como se ha mencionado, el principal síntoma de la senescencia en los tejidos vegetales es el desmantelamiento del aparato fotosintético esto conduce a la degradación de clorofilas y proteínas, lo que se acompaña de la pérdida del funcionamiento de los cloroplastos (Buchanan-Wollaston et al., 2003; Page et al., 2001; Costa et al., 2013a). Debido a ello, los trabajos donde se estudia el proceso de senescencia utilizan como parámetros a seguir el contenido de clorofilas, de proteínas y la actividad del aparato fotosintético.

Senescencia postcosecha de brócoli

El brócoli tiene una corta vida útil postcosecha, ya que se cosechan las inflorescencias todavía inmaduras, aun cuando el sépalo no se ha abierto causando severas condiciones de estrés, que llevan a la pérdida de agua y variaciones en las concentraciones de nutrientes y hormonas, induciendo tempranamente a la senescencia y acelerando este proceso (Büchert et al., 2011)

Desde el punto de vista fisiológico el desarrollo de la senescencia en el brócoli es inducida por corte. Durante la senescencia postcosecha de brócoli se producen cambios

bioquímicos que afectan la calidad nutricional y comercial del producto, como la pérdida de color por degradación de clorofilas, la degradación de proteínas, la disminución de ácido ascórbico y de glucosinolatos entre otros (Costa et al., 2006; Zhan et al., 2012; Ma et al., 2014). La vida útil de estos vegetales no supera los 3 o 4 días a temperatura ambiente (Cantwell et al. 2013). Dada esta característica es fácil comprender el problema existente para la comercialización de este producto en zonas alejadas del lugar de producción.

I-III- Tecnologías postcosecha en Brócoli

Es muy frecuente regular las condiciones exógenas para retrasar la senescencia de las cabezas de brócoli y poder prolongar su vida útil postcosecha. Las condiciones de almacenamiento recomendadas son la refrigeración a 0°C y una humedad relativa de 98-100%, las cuales logran extender su vida útil por 20 días (Toivonen y Forney, 2016). Sin embargo, las instalaciones necesarias para mantener estas condiciones de refrigeración no se implementan en todos los países debido al costo que representan, siendo los procesos de almacenamiento, manipulación y transporte en la postcosecha realizados a temperatura ambiente (Jones et al., 2006; Yuan et al., 2010). Con una temperatura ambiente de 20-25 ° C, la vida útil de brócoli disminuye a 3 días, por eso en los últimos años se han desarrollado estrategias para retrasar la senescencia en estas altas temperaturas. Diferentes tecnologías han sido desarrolladas para retrasar la senescencia del brócoli, incluidos los tratamientos térmicos, radiación UV-C, atmósfera controlada y 1-MCP (Costa et al., 2005, 2006; Jones et al., 2006; Jia et al., 2009; Yuan et al., 2010; Perini et al., 2017) y tratamientos con diferentes compuesto químicos y citoquininas (Downs et al., 1997). Sin embargo ninguna de estas tecnologías se aplica en el sector hortícola de Argentina. En la búsqueda de una alternativa más económica y amigable con el medio ambiente se ha investigado la aplicación de luz visible para retrasar la senescencia postcosecha. Desde hace mucho tiempo se conoce que la senescencia es inducida por la oscuridad y que en el caso de hojas puede revertirse en las etapas iniciales exponiendo los tejidos nuevamente a la luz (Zavaleta-Mancera, 1999).

I.IV Efecto de la luz en postcosecha

En base a lo mencionado anteriormente se ha comenzado a trabajar en la posibilidad de utilizar luz durante el almacenamiento postcosecha de vegetales verdes como una alternativa más amigable con el medio ambiente. La efectividad del tratamiento con luz en

la postcosecha de los vegetales depende de la intensidad de la misma y del fotoperíodo utilizado. Lester et al. (2010) mostraron que el tratamiento continuo con luz de baja intensidad conserva las cualidades nutricionales de la espinaca. También, cuando las hojas de espinacas fueron tratadas con pulsos de luz y se transfirieron a una cámara a 4 ° C bajo oscuridad, la senescencia se retrasó y el contenido de ácido ascórbico y glutatión se mantuvo más alto (Gergoff et al., 2013; Costa et al., 2013b). En otro estudio, Zhan et al., (2012) utilizaron luz continua de baja intensidad para retrasar la senescencia durante el almacenamiento de brócoli a baja temperatura y observaron que disminuyó la pérdida de color, se conservó la textura y el aroma, pero aumentó la pérdida de peso. Además se retrasó el amarillamiento en la postcosecha del brócoli y se redujo el contenido de ácido ascórbico a 20 ° C con un tratamiento con LED rojo (diodos emisores de luz) de 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durante cuatro días (Ma et al., 2014). Hasta el presente se han realizado muy pocos estudios sobre las bases fisiológicas de los tratamientos con luz durante el almacenamiento postcosecha. Se sabe que la luz actúa como regulador de la senescencia a través de dos mecanismos diferentes. En uno, las clorofilas actúan como fotoreceptores, revirtiendo la fotosíntesis, sintetizando fotoasimilados y acumulando azúcares para retrasar la senescencia. En el otro mecanismo, los fitocromos serían los fotoreceptores encargados en regular la senescencia, manteniendo el funcionamiento de los cloroplastos y evitando la inducción de las SAGs (Liebsch y Keech, 2016). Estos fotoreceptores adquieren su forma activa absorbiendo luz roja y sus respuestas fisiológicas pueden revertirse absorbiendo luz en el rojo lejano (Quail, 2002). En el caso de albahaca se ha demostrado que el efecto de los pulsos de luz sobre el metabolismo de proteínas durante la senescencia postcosecha es sistémico y está mediado por fitocromos ya que la intensidad de luz utilizada, se hallaba por debajo del punto de compensación lumínica y los resultados obtenidos fueron similares en los pulsos de luz blanca y roja. (Costa et al., 2013b).

Fitocromos

Los fitocromos son cromoproteínas solubles, que contienen aproximadamente 1100 aminoácidos. Normalmente están formando dímeros, y el peso molecular de cada monómero está en el rango de 120-127 kDa (Thomas, 1991). Los fitocromos detectan la luz en la región del rojo (R, 600 a 700 nm, con pico de absorción en 660 nm) y rojo lejano (FR, 700 a 800 con pico de absorción a 730 nm). Los fitocromos son pigmentos que

presentan dos formas interconvertibles: la forma simbolizada como Pr que absorbe luz roja (LR) y la forma simbolizada como Pfr que absorbe en el rojo lejano (LRL). Pr luego de la absorción se convierte en Pfr que es la forma activa que actúa como una señal que regula muchas respuestas de la planta (Taiz y Zeiguer, 2004).

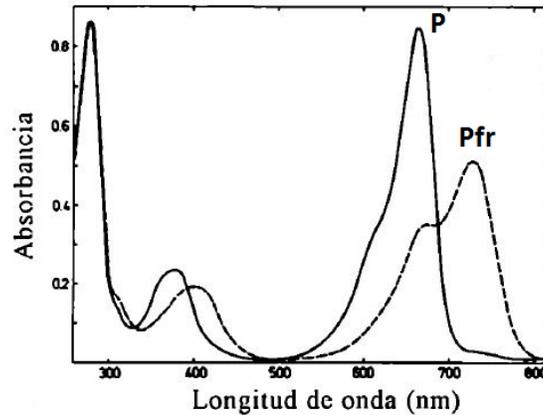


Figura 8: Espectro de absorción del fitocromo. La forma Pr tiene su pico de máxima absorción en los 660 nm, mientras que la forma Pfr en los 730 nm.

Los espectros de absorción de ambas formas se superponen (figura 8). Por esta razón cuando reciben luz se establece un fotoequilibrio dinámico entre las formas Pr y Pfr. La proporción de Pfr respecto de la cantidad total de fitocromo (Pfr/P) depende tanto de la intensidad de la luz como de la calidad de radiación que recibe la planta (Holmes y Smith, 1975; Holmes et al., 1983). La relación Pfr/P estará determinada principalmente por la proporción de LR y LRL incidente. La característica del fitocromo de ser fotorreversible le confiere la propiedad de ser un sensor de la calidad de luz, a través de la percepción de los cambios en la relación R/RL producidos en el ambiente, y el subsecuente cambio en la relación Pfr/P (Smith, 1982). De ésta manera el fitocromo controla procesos cruciales en el desarrollo de las plantas a lo largo de todo su ciclo de vida (figura 9).

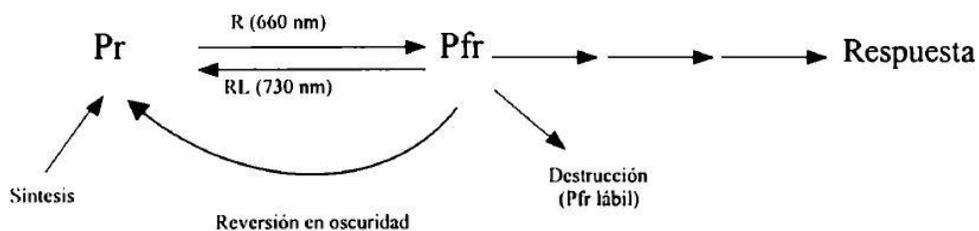


Figura 9: Diagrama de la fototransformación reversible del fitocromo.

I.V. Hipótesis y Objetivos

Hipótesis de trabajo

Dado que la pérdida de calidad postcosecha de brócoli está dada por el desarrollo de la senescencia, y que es bien conocido que el almacenamiento en oscuridad de tejidos verdes acelera la senescencia, la implementación de tratamientos con luz durante el almacenamiento resultará efectiva para retrasar dicho proceso y mantener la calidad nutricional y comercial del producto.

Objetivo general del trabajo (a largo plazo)

Diseñar un tratamiento con pulsos de luz durante el almacenamiento postcosecha de brócoli que pueda utilizarse como complemento a la refrigeración, el que debería ser económico y fácil de implementar.

Objetivos específicos del trabajo

I- Seleccionar un tratamiento con pulsos de luz blanca durante el almacenamiento de brócoli que sea efectivo para retrasar la senescencia postcosecha.

II- Analizar si el efecto de la luz blanca sobre la senescencia postcosecha de brócoli es un efecto mediado por fotosíntesis o si es un efecto mediado por fitocromos.

III- Comparar el efecto del tratamiento con pulsos de luz blanca y roja durante el almacenamiento sobre el metabolismo postcosecha de carbohidratos, proteínas y antioxidantes en brócoli.

II. MATERIALES Y METODOS

Experimento I: Selección del tratamiento adecuado

Se trabajó con cabezas centrales de brócoli, *Brassica oleracea* L. var. *italica*, cv Legacy, cultivadas a campo, por un productor local del cinturón hortícola de La Plata (Sr. Mario Ritossa, Los Hornos). Las mismas luego de ser cosechadas, fueron trasladadas inmediatamente al laboratorio. Cada cabeza fue colocada en una bandeja plástica de PVC con tapa perforada y tratada diariamente con pulsos de luz visible durante el almacenamiento. Se probaron diferentes pulsos de luz como se detalla en la tabla 2 y un control (sin tratamiento de luz), acondicionando 7 bandejas para cada tratamiento. Los pulsos se realizaron diariamente durante 4 días, con luz blanca de baja intensidad ($20-25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) proporcionada por lámparas fluorescentes, la intensidad de la luz se midió con un sensor cuántico de radiación fotosintéticamente activa (RADIAPAR, Cavadevices, Argentina) y se analizaron las cualidades espectrales con un espectrómetro (USB650, Red Tide, OceanOptics, USA).

Tabla 2- Tratamientos con luz blanca de baja intensidad

	Duración del pulso diario	Días de almacenamiento	Luz blanca
Control	Sin tratamiento	4	-
A	30 min	4	$20-25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$
B	60 min	4	$20-25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$
C	120 min	4	$20-25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$

Durante el almacenamiento se analizó diariamente la pérdida de peso de las muestras y el color superficial. Se denominó D0 al día inicial del experimento y sucesivamente D2 y D4 a los días que corresponden a dos y cuatro días de almacenamiento respectivamente.

Se tomaron 5 muestras de cada tratamiento para realizar las mediciones bioquímicas al inicio del experimento (D0) y en el último día (D4). Por cada tratamiento se tomaron inflorescencias, se congelaron y se almacenaron a -20°C . Adicionalmente se tomaron muestras de aproximadamente 5 g de material fresco en el D0 y D4, y se colocaron en

estufa a 60°C para determinar materia seca. Las muestras congeladas se utilizaron para analizar el contenido de pigmentos, el contenido de proteínas solubles, el contenido de azúcares y el contenido de fenoles.

Medida de color superficial

Las medidas de color superficial se realizaron utilizando un colorímetro (Minolta CR300, Osaka, Japón), que permitió obtener los datos sin la destrucción de muestras. Este instrumento de medida se basa en que el color puede describirse matemáticamente como la combinación de la intensidad de tres colores primarios (Gn). Se ilumina la muestra cuyo color se desea medir, y las señales de reflexión o transmisión se calculan directamente en unidades relacionadas con la manera en que el ojo humano percibe el color. Podemos definir el color como el impacto de todas las longitudes de onda de luz visible (390-760 nm) sobre la retina humana.

La medida de color se basa en la respuesta de tres receptores (rojo, verde y azul) por lo que resulta un punto en el espacio tridimensional. En el trabajo se midieron los parámetros L *(luminosidad o brillo), a *(cantidad de rojo) y b *(cantidad de azul). El ángulo de matiz (H °) se calculó como $H^\circ = \tan^{-1}(b/a)$, cuando $a > 0$ y $b > 0$, o como $h^\circ = 180^\circ - \tan^{-1}(b/a)$ cuando $a < 0$ y $b > 0$. Se realizaron diariamente cinco mediciones por cada cabeza.

Medida del contenido de pigmentos clorofilas a, b, total y carotenoides

El contenido de pigmentos se determinó espectrofotométricamente de acuerdo con Lichtenthaler (1987). Aproximadamente 5 g de inflorescencias congeladas fueron trituradas y se tomaron aproximadamente 0,250 g del triturado. Se homogeneizaron dos veces con 1,5 ml de acetona al 80% (v / v), cada homogenato se centrifugó a 6000 x g durante 10 minutos a 4°C. Los sobrenadantes de cada muestra se recuperaron y se midió la absorbancia a 663,2 y 646,8 nm para las clorofilas y 470 nm para los carotenoides. Se calcularon las concentraciones de clorofilas a, b, totales y carotenoides según las ecuaciones de Lichtenthaler (1987). Los resultados se expresaron como µg de pigmento por g de peso seco.

Medida del contenido de proteínas solubles

Aproximadamente 5 g de inflorescencia de brócoli se trituraron y 0,5 g de inflorescencias trituradas se homogenizaron con 1,5 mL de buffer de extracción (tris-

hidroximetilaminometano-HCl, pH 7, con EDTA 1 mM y PMSF 1 mM). Luego se centrifugaron las muestras a 4 °C durante 10 min a 10000 × g. Se midió el contenido de proteínas en el sobrenadante mediante electroforesis en gel de poliacrilamida desnaturante (SDS PAGE), utilizando el procedimiento clásico de Laemmli (1970). Las proteínas se visualizaron mediante la tinción con Coomassie Brilliant Blue R-250. Los geles se fotografiaron con una cámara digital y se cuantificaron las bandas obtenidas utilizando el programa SIGMA GEL. Se incluyeron diferentes concentraciones de albúmina de suero bovino (BSA) o marcadores de peso molecular (Sigma) en cada gel como estándar para realizar la cuantificación.

Medida del contenido de fenoles

El contenido total de fenoles se determinó espectrofotométricamente según Costa et al. (2006) con ligeras modificaciones. Aproximadamente 5 g de inflorescencias congeladas se trituraron y 0,5 g de inflorescencias de brócoli se homogenizaron con 1,5 mL de etanol al 96% (v / v) y se centrifugaron a 9000 x g y 4 °C durante 20 min. El contenido de fenoles totales se midió usando el reactivo de Folin- Ciocalteu. Se midió la absorbancia a 760 nm. Los resultados se expresaron como µg de fenol por g de tejido en base seca.

Medida del contenido de azúcares totales y solubles

El contenido de azúcares reductores, insolubles y solubles se determinó usando el método de Somogy Nelson (Southgate, 1976, Hasperué et al., 2011).

Aproximadamente 5 g de inflorescencias congeladas fueron trituradas y se tomaron muestras de 0,150 g las que se homogeneizaron dos veces con 1 ml de etanol al 96% (v / v). El homogenato se centrifugó a 9000 x g durante 5 min a 4°C. Los sobrenadantes correspondientes a cada muestra se utilizaron para el análisis de azúcares reductores solubles. El pellet obtenido después de las dos extracciones con etanol se hidrolizó con 1,5 ml de HCl al 1,1% a 100°C durante 30 min. Después de enfriar, la suspensión obtenida se centrifugó a 9000 x g durante 5 min a 4°C y el sobrenadante se usó para analizar azúcares insolubles (los que habían quedado en el pellet de la extracción etanólica). Para la determinación de azúcares se utilizó la reacción de Somogy Nelson (formación de un complejo azul producto de la reacción entre azúcares reductores, Cu+2 y arsenomolibdato de amonio) y se midió la absorbancia a 520 nm. Se usó glucosa como estándar para la curva de calibración. Se calculó el contenido de azúcar total sumando las

fracciones soluble e insoluble. Los resultados se expresaron como g de azúcares por Kg de peso seco.

Experimento II: Análisis del efecto del tratamiento con pulsos de luz roja sobre el metabolismo de hidratos de carbono y de proteínas durante la senescencia postcosecha de brócoli.

En este segundo experimento, se evaluó si el efecto logrado sobre la senescencia postcosecha de brócoli se debió a un efecto mediado por fotosíntesis o bien mediado por fitocromos. Para el mismo, se procedió de la misma manera que en el Experimento I, con las cabezas recién cosechadas. Se analizó el efecto de diferentes calidades lumínicas para lo cual se realizaron tratamientos con pulsos de 2 h de luz blanca, roja o roja lejana. Muestras sin tratamiento se usaron como control. Para irradiar las cabezas de brócoli con rojo y rojo lejano, se colocaron los filtros LEE adecuados entre las lámparas y muestras de modo que la irradiación alcanzó $20-25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ como se describe en Costa et al. (2013b). Luego se procedió con las muestras de la misma manera que para el experimento I. Se tomaron 5 muestras de cada tratamiento en el día inicial y luego de 3 días de almacenamiento. Con las muestras congeladas, se repitieron las mediciones del experimento I.

Análisis estadístico

Cada experimento fue repetido dos veces. Los datos obtenidos de cada parámetro fueron analizados por ANOVA y las medias fueron analizadas por un test de Tuckey con un grado de significancia de 0,05.

III. RESULTADOS

III.I. Experimento 1

Color Superficial

Uno de los principales síntomas de la senescencia en el brócoli, es el amarillamiento de sus inflorescencias. Para la medida de color se utilizó el parámetro Hue. En el D0 y en el D2 los valores de Hue fueron cercanos a 140 y luego decrecieron en todas las inflorescencias al llegar al D4 (figura 10). El amarillamiento decreció a medida que se aumentó la duración del pulso de luz, luego de 4 días bajo almacenamiento a temperatura ambiente en comparación con el control que se encontraba en oscuridad (tabla 3). Los resultados coinciden con la apariencia de las muestras (figura11).

Tabla3: Amarillamiento de las cabezas de brócoli, calculado a partir de la diferencia del ángulo Hue entre el día 4 y 0 para cada tratamiento. Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Amarillamiento (Hue D0 – Hue D4)	Control	30 min	1 h	2 h
	21.5 a	13.3 b	9.5 b	2.5 c

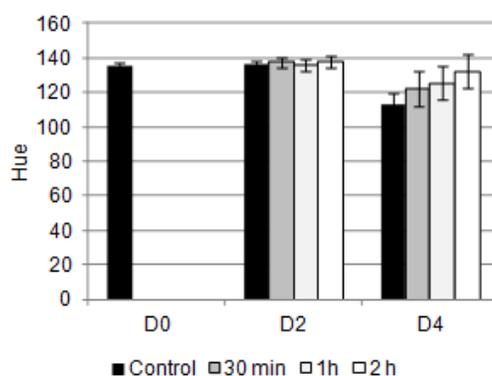


Figura10: Valor de Hue en el día inicial (D0), al segundo (D2) y cuarto día (D4) de tratamiento. El ángulo Hue indica el color superficial de las cabezas de brócoli. Los resultados se expresan como la media ($n = 7$) \pm el desvío estándar.

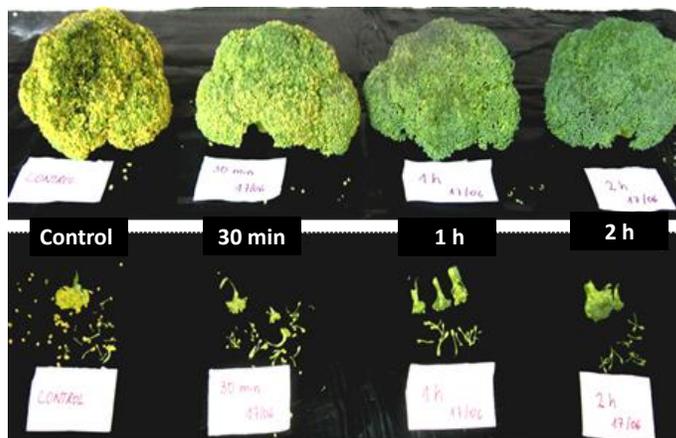


Figura 11: Cabezas e inflorescencias de brócoli. Imagen del control y tratamientos de 30 minutos, 1 hora y 2 horas luego de 4 días de almacenamiento a temperatura ambiente.

Pérdida de peso

El control luego de 4 días de almacenamiento a temperatura ambiente (20°C) perdió el 6% de su peso. En cuanto a los tratamientos las pérdidas de peso aumentaron a medida que aumentaba la duración del pulso de luz. El tratamiento de 2h, mostro pérdidas del 11% de su peso inicial (figura 12).

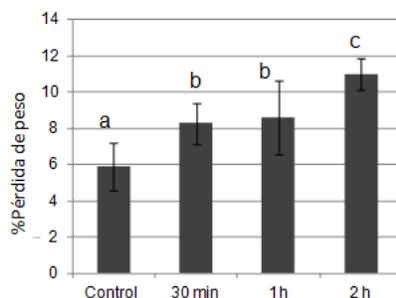


Figura 12: Pérdida de peso de las cabezas de brócoli, medido para cada tratamiento a lo largo del almacenamiento. Los resultados son expresados como la media (n = 5) ± la desviación estándar.

Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Como las pérdidas de peso fueron significativas, los parámetros bioquímicos se expresaron en función de peso seco.

Contenido de pigmentos, clorofilas a, b y totales

La pérdida de color es causada por la degradación de las clorofilas, lo cual disminuye la vida útil en la postcosecha del producto. Se observó que el contenido de clorofilas totales

disminuyó significativamente luego de 4 días de almacenamiento (figura 13). En el control las pérdidas de clorofilas fueron alrededor del 40%. En cuanto a los tratamientos, la degradación de clorofilas dependió de la duración de los pulsos. Los resultados obtenidos en el tratamiento de 30 minutos fueron similares al control, mientras que en el tratamiento de 1 hora se perdieron 22% de clorofilas y en el tratamiento de 2h no se mostraron perdidas luego de 4 días de tratamientos.

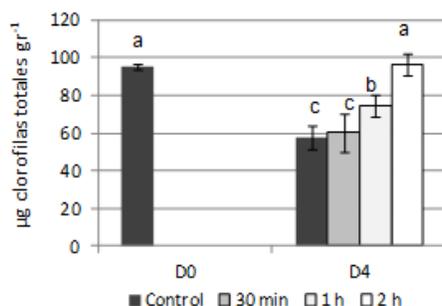


Figura 13: Contenido de clorofilas totales de cada tratamiento para el día 0 y día 4. Los resultados son expresados como la media ($n = 5$) \pm la desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Las plantas superiores poseen principalmente dos tipos de clorofilas: a y b. La principal vía de degradación de ambas clorofilas sigue un camino común, pero es necesario que la clorofila b se transforme en clorofila a como primer paso en su degradación (Hörtensteiner et al., 2011).

En el tratamiento de 1 hora la pérdida de clorofilas totales fue menor respecto al control y al tratamiento de 30 min; no se observaron diferencias significativas en la pérdida de clorofila a entre estos tres tratamientos (figura 14).

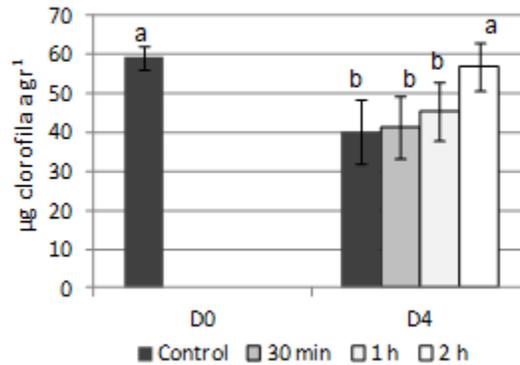


Figura 14: Contenido de clorofila a, para cada tratamiento en el día 0 y día 4. Los resultados son expresados como la media ($n = 5$) \pm la desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

En cuanto a la clorofila b, los tratamientos de 1 hora y 2 horas, fueron los que menos degradación presentaron (figura 15). A partir de los datos obtenidos se calculó la relación entre clorofila a/b para cada tratamiento (tabla 4). La relación aumentó en las muestras control luego de 4 días y lo mismo ocurrió en el tratamiento de 30 min, mientras que en los tratamientos de 1 y 2 h la relación disminuyó lo que se explica porque retuvieron más clorofila b.

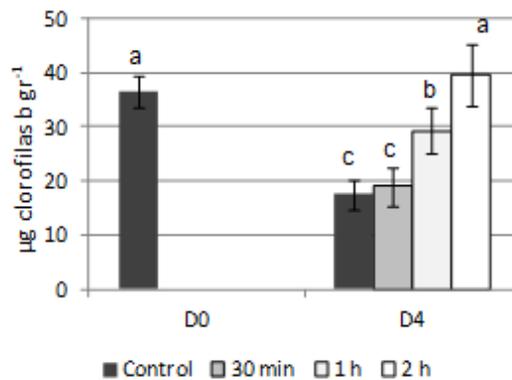


Figura 15: Contenido de clorofila b para cada tratamiento en el día 0 y día 4. Los resultados son expresados como la media ($n = 5$) \pm la desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Tabla 4: Indica la relación calculada entre clorofila a y b. Se calculó para el día 0 y para cada tratamiento en el día 4. Los resultados son expresados como la media (n = 5) ± la desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas (p <0.05) entre los tratamientos.

Clorofila a/b	
D0	1.7b
Control D4	2.2 a
30 min D4	2.1 a
1 h D4	1.6 b
2 h D4	1.4 c

Contenido de fenoles

Durante el almacenamiento a temperatura ambiente del brócoli, se observó que el contenido de fenoles aumentó a medida que aumentaba la duración del pulso (figura 16). Los tratamientos que mayor aumento presentaron fueron los de 1 hora y 2 horas.

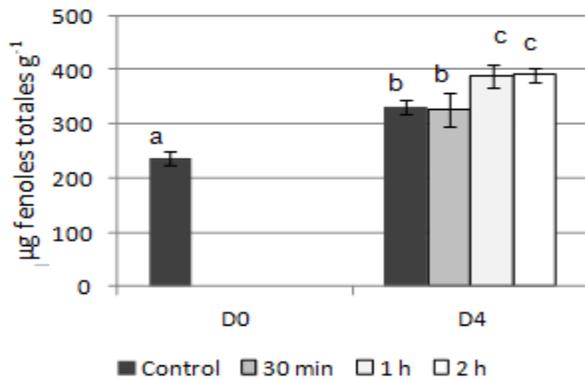


Figura 16: Contenido de fenoles totales para cada tratamiento, en el día 0 y día 4.

Contenido de proteínas

En la senescencia la pérdida del contenido de proteínas es un síntoma, que se asocia con la desorganización del cloroplasto. Los resultados indicaron que luego de los 4 días de almacenamiento a temperatura ambiente, el control y el tratamiento de 30 minutos

retuvieron solo el 50% de las proteínas del día 0, mientras que los tratamientos de 1 hora y 2 horas, retuvieron 65-75% de proteínas (figura 17).

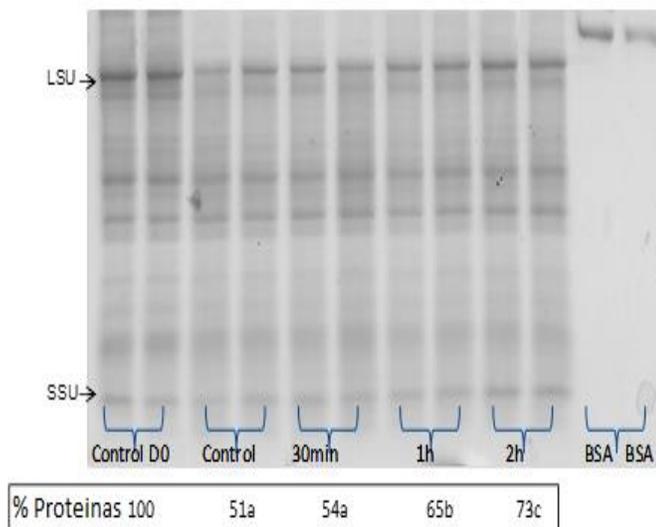


Figura 17: Gel de proteínas solubles. Las flechas señalan las subunidades grande y pequeña de Rubisco (LSU y SSU). Se realizó una cuantificación de proteínas (% respecto al valor inicial) en cada línea de gel usando cantidades conocidas de BSA como referencia. Los resultados se expresaron como la media ($n = 5$) \pm la desviación estándar. Las letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Contenido de azúcares

Teniendo en cuenta que los pulsos de luz podrían mantener activo el proceso de fotosíntesis, se midió el contenido de azúcares totales, reductores e insolubles. En todas las inflorescencias se observó una pérdida del 50% de azúcares totales a excepción del tratamiento de 2 horas, que retuvo cerca del 80% respecto al valor inicial (tabla 5).

Tabla 5: Contenido de Azúcares totales, reductores e insolubles para el día 0 y día 4 para cada tratamiento. Los resultados son expresados como la media ($n = 5$) \pm la desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

	A. Reductores (g Kg ⁻¹)	A. Insolubles (g Kg ⁻¹)	A. Totales (g Kg ⁻¹)
D0	30.30 ± 2.0 a	3.70 ± 0.2 a	34.00 ± 2.2 a
D4	10.20 ± 5.4 c	2.79 ± 0.7 b	12.99 ± 6.1 c
Control			
D4	8.55 ± 2.5 c	3.00 ± 0.2 b	11.55 ± 2.7 c
30 min			
D4 1h	12.15 ± 5.5 c	2.96 ± 0.5 b	15.11 ± 6.0 c
D4 2h	20.45 ± 2.3 b	2.83 ± 0.2 b	23.28 ± 2.5 b

Considerando todos los resultados obtenidos en conjunto, se llegó a la conclusión que el tratamiento con pulsos de 2 horas diarias de baja intensidad a temperatura ambiente durante 4 días fue efectivo para retrasar la senescencia postcosecha de brócoli

III.II. Experimento 2

Color Superficial

Tanto el tratamiento con luz blanca de baja intensidad como el de luz roja de baja intensidad retrasaron el amarillamiento (figura 17 y 18). El tratamiento con luz roja lejana revirtió el efecto de luz roja, y fue similar a los resultados del control.

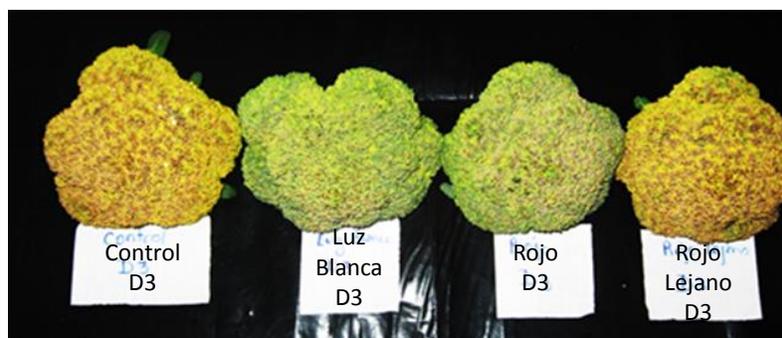


Figura 17: Cabezas de brócoli del control, luz blanca, luz roja y luz roja lejana, luego de 3 días de almacenamiento a temperatura ambiente.

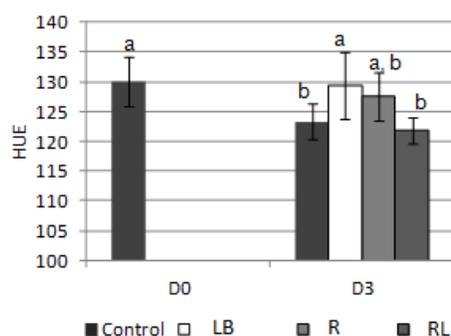


Figura 18: Medida del ángulo Hue a través de un colorímetro, en el día inicial y al tercer día de tratamiento. Indica el color superficial de las cabezas de brócoli. Los resultados son expresados como la media ($n = 5$) \pm la desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Contenido de pigmentos, clorofilas a, b y totales

En todos los tratamientos y el control hubo degradación de clorofilas en comparación con el día 0. Los tratamientos de luz blanca y roja de baja intensidad son los que mayor retención mostraron. El efecto de la luz roja fue revertido por la luz roja lejana, siendo similar al control luego de 3 días de tratamiento (figura 19).

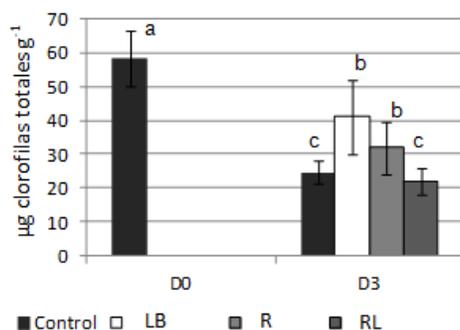


Figura 19: Contenido de clorofilas totales de cada tratamiento para el día 0 y día 3. Los resultados son expresados como la media ($n = 5$) \pm la desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Tanto el contenido de clorofila a y clorofila b, disminuyó en todos los tratamientos y el control luego del D3. En cuanto al contenido de clorofila a, los tratamientos con luz blanca

y roja de baja intensidad al cabo de 3 días, retuvieron alrededor del 16% más que el control y el tratamiento con luz roja lejana de baja intensidad (figura 20).

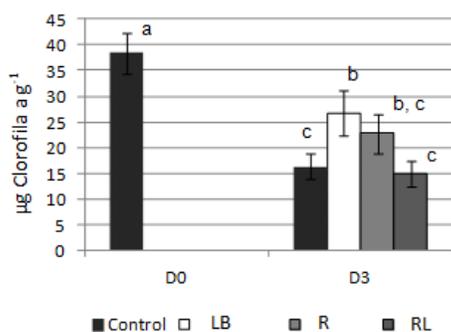


Figura 20: Contenido de clorofilas a de cada tratamiento para el día 0 y día 3. Los resultados son expresados como la media ($n = 5$) \pm la desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Respecto a la clorofila b, el tratamiento con luz blanca retuvo el 75% con respecto a la clorofila b medida en el D0. Los tratamientos con luz roja, roja lejana y el control retuvieron una menor cantidad, presentando valores similares (figura 21). A partir de estos datos se calculó la relación de clorofila a/b para cada tratamiento (tabla 6). Los tratamientos con luz roja, roja lejana y el control del D3 presentaron valores superiores que el control del D0, en cambio el tratamiento con luz blanca presentó una relación menor, por que retuvo mayor cantidad de clorofila b en comparación con los otros tratamientos.

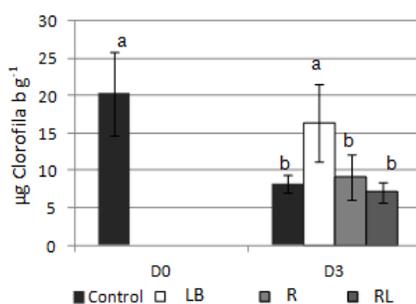


Figura 21: Contenido de clorofilas b de cada tratamiento para el día 0 y día 3. Los resultados son expresados como la media ($n = 5$) \pm la desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Tabla 6: Indica la relación calculada entre clorofila a y b. Se calculó para el día 0 y para cada tratamiento en el día 3. Los resultados son expresados como la media (n = 5) ± la desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas (p <0.05) entre los tratamientos.

Clorofila a/b	
D0	1.9 a
Control D3	2.0 a
Luz Blanca D3	1.6 b
Luz Roja D3	2.5 c
Luz Roja Lejana D3	2.1 a,c

Contenido de Fenoles

En todos los tratamientos y el control se retuvo el contenido de fenoles medido en el día 0. Luego de 3 días de almacenamiento, el tratamiento de luz blanca mostró concentraciones más elevadas que el día 0, mientras que los tratamientos con luz roja y roja lejana fueron similares al control (figura 22).

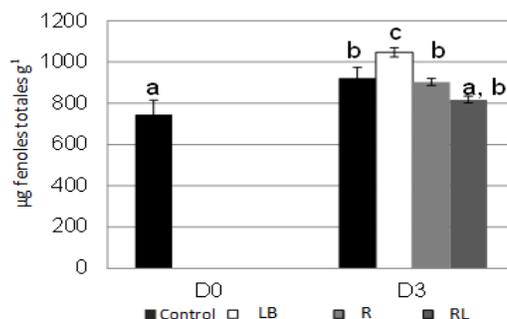


Figura 22: Contenido de fenoles totales para cada tratamiento, en el día 0 y día 3. Los resultados son expresados como la media (n = 5) ± la desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas (p <0.05) entre los tratamientos.

Contenido de Proteínas

Luego de 3 días de almacenamiento observamos que el contenido de proteínas de las muestras tratadas con luz blanca y roja fue mayor respecto a las muestras no tratadas (control) y las tratadas con rojo lejano (figura 23). Podemos sugerir entonces que la degradación de proteínas se retrasó con el tratamiento con luz blanca y roja de baja

intensidad, y este efecto fue revertido por el tratamiento de luz roja lejana (figura 23). Para el cálculo de los porcentajes se tomó como 100% el contenido de proteínas al D0.

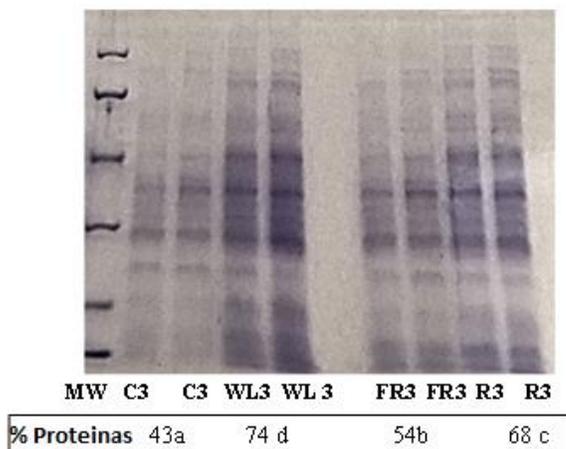


Figura 23: Gel de proteínas solubles de las inflorescencias de brócoli. Se realizó una cuantificación de proteínas en cada línea de gel usando cantidades conocidas de BSA como referencia. El porcentaje de proteína se calculó para cada línea de gel. Los resultados son expresados como la media ($n = 5$) \pm la desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Contenido de Azúcares

Luego de 3 días de almacenamiento a temperatura ambiente, se observó una disminución del 60% del contenido de azúcares totales en el control, mientras que en los tratamientos con luz blanca, roja y roja lejana de baja intensidad la disminución fue del 25% aproximadamente en comparación con el día 0 (tabla 7).

Tabla 7: Contenido de Azúcares totales, reductores e insolubles para el día 0 y día 3 para cada tratamiento. Los resultados son expresados como la media ($n = 5$) \pm la desviación estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

	A. Reductores (g Kg ⁻¹)	A. Insolubles (g Kg ⁻¹)	A. Totales (g Kg ⁻¹)
D0	16.50 \pm 1.7 a	4.37 \pm 1.3 a	20.87 \pm 3.0 a
D3 Control	6.00 \pm 1.4 c	1.90 \pm 0.5 b	7.90 \pm 6.1 c
D3 LB	13.61 \pm 0.9 b	2.40 \pm 0.7 b	16.01 \pm 1.6 b
D3 R	12.70 \pm 1.3 b	1.70 \pm 0.4 b,c	14.40 \pm 1.7 b
D3 RL	12.90 \pm 2.0 b	1.48 \pm 0.2 c	16.38 \pm 2.2 b

IV. DISCUSION

IV.I. Selección del tratamiento adecuado para retrasar la senescencia.

El objetivo principal de las tecnologías postcosecha aplicadas a brócoli es extender su vida útil, conservando la calidad nutricional y comercial del producto. El color de las inflorescencias es uno de los principales parámetros de calidad comercial de brócoli, que debe ser verde intenso ya que, si no es visualmente atractivo los consumidores no lo comprarán. Por este motivo, el manejo adecuado de brócoli será diseñado para retrasar la senescencia postcosecha de las inflorescencias, ya que es el proceso responsable de la degradación de clorofilas que conduce rápidamente al amarillamiento.

En los últimos años, los tratamientos con luz visible se utilizaron con éxito como metodología para retrasar la senescencia postcosecha de vegetales verdes (Zhan et al., 2012; Costa et al., 2013b; Gergoff Grozeff et al., 2013; Ma et al., 2014; Jin et al., 2015). En el caso particular de brócoli, trabajos anteriores mostraron que tratamientos con luz blanca continua de baja intensidad durante el almacenamiento retrasaron el amarillamiento (Büchert et al., 2011; Zhan et al., 2012).

En este trabajo analizamos la posibilidad de utilizar pulsos de luz de baja intensidad durante el almacenamiento de brócoli, con el objetivo de retrasar la senescencia postcosecha. Para ello, en una primera experiencia se seleccionó el tiempo de duración adecuado de los pulsos. Al aplicar pulsos de luz de distinta duración, se observó que la duración del pulso es inversamente proporcional al amarillamiento en las cabezas de brócoli almacenadas a temperatura ambiente (tabla 3), resultando los pulsos de 2 h diarias los que lograron el mejor resultado en cuanto a apariencia y color (figuras 10 y 11).

Si bien los tratamientos con pulsos de luz fueron eficientes para retrasar la senescencia, debemos mencionar que un resultado no deseado fue la pérdida de peso considerable en las cabezas de brócoli tratadas. En el proceso de transpiración, la principal pérdida de agua es en forma de vapor a través de los estomas. El mecanismo de apertura y cierre del poro estomático, responde a variaciones de ciertos factores ambientales e internos, entre ellos la luz. Se sabe que la luz blanca y azul son las más efectivas en la regulación de la apertura de los estomas (Eckert y Kaldenhoff, 2000). Un aumento del tiempo de irradiación abre más los estomas y, por lo tanto, aumenta la transpiración. En este trabajo el porcentaje de pérdida de peso resultó directamente proporcional a la duración del

pulso. Por lo tanto, es posible considerar que los estomas se mantuvieron abiertos durante el tratamiento con luz, por lo que el tratamiento de 2 horas resultó el que presentó la mayor pérdida de peso (figura 12). Debido a las diferencias significativas en la pérdida de peso de los tratamientos con luz utilizados, todos los parámetros bioquímicos fueron expresados en base seca.

El efecto de los tratamientos pudo observarse a simple vista como un retraso en el amarillamiento postcosecha de brócoli, sin embargo cuando queremos afirmar que los tratamientos retrasan la senescencia, debemos analizar la degradación de dos compuestos que se utilizan como marcadores de senescencia: degradación de clorofilas y degradación de proteínas. Cuando se compararon los resultados del amarillamiento de las inflorescencias con el contenido de clorofilas total de las muestras (tabla 3 y figura 13), se observó la misma tendencia en ambos por lo que podemos afirmar que la degradación de clorofilas es la causa del amarillamiento.

Las plantas superiores poseen dos tipos de clorofilas, Chla y Chlb, que se encuentran asociadas a proteínas, y son conocidas como complejos clorofilas-proteínas. Estos complejos se encuentran en las membranas tilacoidales formando parte de los complejos recolectores de luz en los fotosistemas I y II que llevan adelante el proceso de fotosíntesis. En todos los tratamientos realizados se observó que a mayor duración del pulso de luz de baja intensidad, mayor fue la retención de clorofilas. Además se observó, que la degradación de Chlb fue mayor respecto a la Chla (figuras 14 y 15), lo que puede relacionarse con el hecho de que el primer paso de la degradación de la Chlb es la reducción en un solo paso catalizado por la Chlb reductasa para transformarse en Chla (Hörtensteiner, 2006). Los tratamientos con distinta duración de pulsos de luz retrasaron la degradación de ambos tipos de clorofilas, pero tuvieron un efecto más marcado en la Chlb, lo cual se traduce en un modificación de la relación Chla/Chlb en comparación con los controles (tabla 4). Este resultado puede indicar que la luz ejerce un efecto sobre la expresión de los genes que codifican la Chlb reductasa. Los resultados obtenidos coinciden con los publicados previamente por Zhan et al. (2012) para la degradación de clorofila a y b durante la senescencia postcosecha de brócoli.

En cuanto al otro marcador de senescencia, se observó que el contenido de proteínas solubles disminuyó siguiendo la misma tendencia que la degradación de clorofilas en las inflorescencias luego de 4 días de almacenamiento a temperatura ambiente (figura 17). Los tratamientos de 1 y 2 horas tuvieron un mayor efecto en el retraso de la degradación

de proteínas, ya que retuvieron el 65% y 73% de las proteínas iniciales respectivamente; mientras que el control en oscuridad solo retuvo el 50% de las proteínas iniciales. En los tejidos verdes la proteína soluble más abundante es Rubisco; esta proteína se encuentra en el estroma de los cloroplastos y es la enzima clave en la asimilación de carbono por fotosíntesis (Lodish et al., 2000). Durante la senescencia, las proteínas del estroma en los cloroplastos se degradan rápidamente, disminuyendo la capacidad fotosintética (Costa et al., 2013a). A pesar de la importancia fisiológica de Rubisco, su mecanismo de degradación todavía no ha sido completamente explicado (Carrión et al., 2013) aunque podemos afirmar que las proteasas asociadas a la senescencia estarían involucradas (Hörtensteiner y Feller, 2002). Además, es muy probable que la luz sea un factor de regulación de muchos genes asociados con la senescencia (SAGs) muchos de los cuales codifican proteasas; por ejemplo SAG12 que codifica para una proteasa cisteínica muy vinculada a la actividad proteolítica característica de la senescencia de hojas (Liebsch y Keech, 2016). En este estudio, encontramos que los pulsos de luz de baja intensidad retrasaron la degradación de Rubisco. Sin embargo, a pesar de que Rubisco es importante para mantener la actividad fotosintética, el aparato fotosintético necesita la presencia de otros componentes y una estructura adecuada para su funcionamiento (correcto ensamblaje de los complejos pigmentos-proteínas).

Analizamos si las muestras tratadas con luz además de retrasar la senescencia conservaban un alto contenido de otros metabolitos relacionados con la calidad del producto como fenoles totales y azúcares solubles. Los azúcares solubles fueron medidos como azúcares reductores ya que las hexosas representan el mayor porcentaje de azúcares solubles del brócoli (Rosa et al., 2001). El tratamiento de 30 minutos resultó insuficiente para retrasar la senescencia, ya que los contenidos de proteínas y clorofilas fueron similares al control luego de 4 días de almacenamiento a temperatura ambiente y lo mismo ocurrió con fenoles y azúcares solubles (figura 16 y tabla 5). Por otra parte hemos observado que si bien tanto el tratamiento de 1 como el de 2 horas fueron eficientes para retrasar la senescencia (figura 11 y 13; tabla 3 y 5) claramente el tratamiento de 2 horas fue el más adecuado, ya que retuvo el mayor contenido de proteínas, fenoles y azúcares solubles respecto al control (figuras 17, 16 y tabla 5).

En el tratamiento de 2 horas el contenido de azúcares reductores se mantuvo, lo cual puede ser por una menor tasa de respiración de las inflorescencias durante el almacenaje o bien porque los pulsos de luz permitieron mantener la fotosíntesis activa. Cualquiera sea

la causa, podemos pensar que mantener un elevado contenido de azúcares reductores permite retrasar la senescencia postcosecha del brócoli (Hasperué et al., 2011). El efecto del contenido de azúcares reductores en las hojas sobre la senescencia es complejo y ha sido estudiado en la planta modelo *Arabidopsis thaliana*. Se ha demostrado que en las etapas iniciales de la senescencia la concentración de azúcares aumenta, provocando cambios en la expresión de algunos genes que regulan la senescencia, lo que conduce a un retraso de los síntomas de la senescencia tardía (Gibson 2005; Wingler y Roitsch, 2008). Se puede observar que en los tratamientos con pulsos de luz hay una mayor cantidad de azúcares solubles en comparación con el control en oscuridad luego de 4 días de almacenamiento (tabla 7) y que esta cantidad de hexosas disponibles ayudan a retrasar la senescencia postcosecha de brócoli. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Hasperué et al. (2011) e Irving y Joyce (1995), donde demuestran que las hexosas retrasan la senescencia postcosecha en brócoli.

Resumiendo, a partir del experimento 1 podemos destacar que el tratamiento de 30 minutos resultó insuficiente para retrasar la senescencia mientras que hemos observado que si bien tanto el tratamiento de 1 como el de 2 horas fueron eficientes para retrasar la senescencia (figura 11 y tabla 5) claramente el tratamiento de 2 horas fue el más adecuado, ya que retuvo el mayor contenido de proteínas, fenoles y azúcares respecto al control (figuras 17, 16 y tabla 5). Resultados similares fueron descritos por Costa et al. (2013) para hojas de albahaca tratadas con pulsos de luz de baja intensidad y almacenadas en la oscuridad a temperatura ambiente.

IV.II. Mecanismos fisiológicos involucrados en el retraso de la senescencia mediante la aplicación de pulsos de luz.

Hemos demostrado que mediante la aplicación de pulsos diarios de 2 h de luz de baja intensidad durante el almacenamiento, podemos retrasar la senescencia postcosecha de brócoli. Ahora bien, queremos avanzar sobre el conocimiento de las bases fisiológicas que permiten explicar este efecto.

Uno de los posibles mecanismos involucrados sería mediado por clorofilas. Estos fotorreceptores realizan la fotosíntesis a partir de la absorción de luz y como consecuencia de este metabolismo aumenta el contenido de fotoasimilados.

Para analizar si es posible que los tratamientos de luz mantuvieran activa la fotosíntesis, analizamos el contenido de azúcares totales en las inflorescencias de brócoli, luego de 4

días de almacenamiento a temperatura ambiente. Basados en los resultados obtenidos, que mostraron que el contenido de azúcares totales disminuyó en todos los tratamientos con pulsos de luz (tabla 7), es poco probable que la fotosíntesis haya permanecido activa, a pesar del alto contenido de Rubisco que conservaron. Además resulta un dato importante a tener en cuenta que la intensidad de los pulsos utilizados para realizar los tratamientos, 20-25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, se encuentra por debajo del punto de compensación lumínica de la mayoría de los vegetales, por lo tanto resulta poco probable que los pulsos de luz puedan inducir la fotosíntesis (Costa et al., 2013b). Nuestros resultados sugieren que los pulsos de luz de baja intensidad utilizados en los tratamientos no fueron suficientes para la síntesis neta de los azúcares en las inflorescencias, por lo que el retraso de los efectos de la senescencia podría deberse a la participación de otros fotorreceptores actuando como señal, por ejemplo los fitocromos. Resultados similares fueron encontrados previamente en hojas de albahaca (Costa et al., 2013b).

Para analizar la posibilidad de que el retraso de la senescencia postcosecha de brócoli pueda deberse a un efecto mediado por fitocromos, realizamos un ensayo utilizando el tratamiento seleccionado (2 h diarias de luz de baja intensidad) pero comparando el efecto que produce usar diferente calidad de luz: blanca, roja o roja lejana.

Los fitocromos tienen dos formas interconvertibles, una inactiva Pr localizada en el citosol y una activa Pf en el núcleo. La forma inactiva Pr absorbe luz roja y se transforma en la forma activa Pf, que puede absorber luz roja lejana y convertirse nuevamente en Pr. Por este motivo, la respuesta de los fitocromos está definida por su capacidad de revertirse por la luz roja/roja lejana (Quail, 2002). La interacción de los fitocromos con la luz, puede actuar como una señal para activar los factores de transcripción que regulan la expresión de los SAGs (genes asociados con la senescencia) (Piao et al., 2015). De hecho, los últimos reportes sobre la senescencia en hojas muestran que la interacción de los fitocromos con los factores de interacción de los fitocromos (PIF) están involucrados en la regulación de los genes encargados del mantenimiento de los cloroplastos, genes del catabolismo de la clorofila, genes involucrados en la biosíntesis de etileno y en las señales de ABA y etileno (Piao et al., 2015; Liebsch y Keech, 2016). Por lo tanto, en un segundo experimento investigamos si los efectos de la luz estaban mediados por los fitocromos, analizando la respuesta de las inflorescencias del brócoli a través de la aplicación de luz roja y roja lejana. Las respuestas obtenidas fueron muy distintas para cada parámetro analizado. Aparentemente el efecto de la luz de los tratamientos activa

distintos mecanismos, y solo algunos de ellos son mediados por fitocromos. La luz roja y roja lejana, tuvieron un efecto opuesto en la degradación de clorofilas y proteínas, lo que sugiere que en estos procesos estarían involucrados los fitocromos (figuras 19 y 23). Estos resultados son similares a los obtenidos en las hojas de albahaca (Costa et al. 2013b). Sin embargo, la degradación de las Chla y Chlb, siguieron un patrón distinto. Las clorofilas a, mostraron una respuesta típica, mediada por fitocromos; el contenido de clorofilas en el tratamiento con luz roja luego de 3 días de almacenamiento fue similar al tratamiento con luz blanca y este efecto fue revertido por el tratamiento con luz roja lejana (figura 20). Lo opuesto sucedió con la degradación de las clorofilas b; no hubo retención en el tratamiento con luz roja y el efecto fue similar en el tratamiento con luz roja lejana (figura 21). Estos resultados sugieren que si hay algún tipo de regulación de la Chlb reductasa a través de la luz, tal como se mencionó anteriormente en esta discusión, esta no sería mediada por los fitocromos.

La concentración de fenoles fue similar en los tratamientos con luz roja, roja lejana y en los controles en oscuridad, mientras que en las inflorescencias tratadas con luz blanca la concentración fue mayor (figura 22). Estos resultados sugieren que los fitocromos tampoco estarían involucrados en la regulación del contenido de fenoles y que hay otras señales inducidas por la luz blanca que regulan este metabolismo.

Las diferencias encontradas entre los tratamientos de luz blanca y luz roja, sugieren que hay otro tipo de fotorreceptores involucrados. Los criptocromos son receptores de la luz azul, encargados de mediar distintas respuestas en las plantas inducidas por la luz, como por ejemplo la inducción a la floración y la apertura estomática (Li and Yang, 2007). Recientemente, Hasperué et al. (2016), utilizaron una combinación de luz blanca y azul emitida por LEDs, de baja intensidad y continua, que fue efectiva para aumentar la vida útil del brócoli almacenado a 5°C y a 22°C. Para finalizar, el contenido de azúcar fue mayor luego de 3 días de almacenamiento con respecto al control para todos los tratamientos (tabla 7). Por lo tanto, la retención de azúcares fue independiente de la calidad de luz utilizada. En *Arabidopsis thaliana*, se demostró que un retraso en la senescencia asociado a los genes como SAG12 son reprimidos por un alto contenido de azúcares (Wingler et al., 2006). Posiblemente, el efecto de los tratamientos con luz está relacionado con un retraso en el consumo de azúcares debido a una menor tasa de respiración durante el almacenamiento. Podríamos pensar entonces que los fitocromos están involucrados en la regulación de los genes asociados a la biosíntesis de etileno

afectando la respiración. Sin embargo, se necesita investigar más, para lograr comprender el efecto de la luz de baja intensidad en la senescencia postcosecha.

V. CONCLUSION

Dado que la pérdida de calidad postcosecha de brócoli está dada por el desarrollo de la senescencia, y que es bien conocido que el almacenamiento en oscuridad de tejidos verdes acelera la senescencia, se planteó como hipótesis de este trabajo la posibilidad de implementar un tratamientos con luz durante el almacenamiento que resulte efectivo para retrasar dicho proceso y mantener la calidad nutricional y comercial del producto. Para corroborar esta hipótesis, se plantearon una serie de objetivos que se comparan con los resultados obtenidos:

- I- Seleccionar un tratamiento con pulsos de luz blanca durante el almacenamiento de brócoli que sea efectivo para retrasar la senescencia postcosecha.

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que el tratamiento con pulsos de luz diaria de 2 horas con luz blanca de baja intensidad ($20\text{--}25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) puede ser una tecnología prometedora para retrasar la senescencia postcosecha en brócoli en almacenamiento a temperatura ambiente. Todas las inflorescencias mostraron una reducción de los azúcares totales, pero la concentración fue mayor que en las inflorescencias en oscuridad, independientemente de la calidad de luz utilizada.

- II- Analizar si el efecto de la luz blanca sobre la senescencia postcosecha de brócoli es un efecto mediado por fotosíntesis o si es un efecto mediado por fitocromos.

Se observó que la intensidad de luz utilizada se encontraba por debajo del punto de compensación lumínica del brócoli, la cual fue insuficiente para mantener la fotosíntesis activa. Solo algunos de los parámetros analizados fueron mediados por los fitocromos, ya que el efecto de la luz roja fue revertido por el efecto de la luz roja lejana, como la concentración de clorofilas y proteínas. Sin embargo en los otros parámetros analizados, las diferencias encontradas entre los tratamientos de luz blanca y luz roja, sugieren que hay otro tipo de fotorreceptores involucrados, como los criptocromos.

- III- Comparar el efecto del tratamiento con pulsos de luz blanca y roja durante el almacenamiento sobre el metabolismo postcosecha de carbohidratos, proteínas y antioxidantes en brócoli.

Los resultados sugieren que los tratamientos con luz roja y luz blanca tuvieron un efecto similar en la degradación de clorofilas a y en la degradación de las proteínas durante la senescencia en la postcosecha de brócoli, pero la luz roja fue insuficiente para retener el contenido de clorofilas b y fenoles en comparación con la luz blanca.

VI. BIBLIOGRAFIA

- Boletín situacional brócoli, 2014. Coordinación General del Sistema de Información Nacional (CGSIN), Dirección de Análisis y Procesamiento de la Información de Ecuador.
- Büchert, A.M., Gómez Lobato, M.E., Villarreal, N.M., Civello, P.M., Martínez, G.A., 2011. Effect of visible light treatments on postharvest senescence of broccoli (*Brassica oleracea*L.). *J. Sci. Food Agric.* 91, 355–361.
- Buchanan-Wollaston, V.E.S., Harrison, E., Mathas, E., Navabpour, S., Page, T., Pink, D., 2003. The molecular analysis of leaf senescence –a genomics approach. *Plant Biotechnol. J.* 1, 3–22.
- Cantwell M.I., Gutierrez-Rodriguez E., Lieth H.J., Jernstedt J.A., Labavitch J.M, Suslow T.V., 2013 Texture, composition and anatomy of spinach leaves in relation to nitrogen fertilization *JSci Food Agric:Volume93, Issue2, Pages 227-237.*
- Cantwell M.I., Cahn M.D., Koike S.T., Dara S.K., Daugovish O., Fenimore S.A., Le Strange M., Natwick E.T., Smith R.F., Takele E., 1996. University of California, Agriculture and Natural Resources. Publication 7211.
- Carrión, C.A., Costa, M.L., Martínez, D.E., Mohr, C., Humbeck, K., Guiamet, J.J., 2013. In vivo inhibition of cysteine proteases provides evidence for the involvement of senescence-associated vacuoles in chloroplast protein degradation during dark-induced senescence of tobacco leaves. *J. Exp. Bot.* 64, 4967–4980.
- Censo Hortiflorícola de la Provincia de Buenos Aires (CHFBA), 2005 Gobierno de la Provincia de Buenos Aires. Ministerio de Economía, Dirección Provincial de Estadística. Ministerio de Asuntos Agrarios, Dirección Provincial de Economía Rural. 115 pp.
- Colamarino, I., Curcio N., Ocampo F., Torrandel C., 2006.: “La producción hortícola en la Argentina”, SAGPyA.
- Costa, M.L., Civello, P.M., Chaves, A.R., Martínez, G.A., 2005. Effect of hot air treatments on senescence and quality parameters of harvested broccoli *Brassica oleracea* L varitalica heads. *J. Sci. Food Agric.* 85, 1154–1160.
- Costa, M.L., Vicente, A.R., Civello, P.M., Chaves, A.R., Martínez, G.A., 2006. UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. *Postharvest Biol. Technol.* 39, 204–210.
- Costa, M.L., Martínez, D.E., Gomez, F.M., Carrión, C., Guiamet, J.J., 2013a. Chloroplast protein degradation: involvement of senescence-associated vacuoles. In: Biswal, B.

Krupinska, K., Biswal, U.C. (Eds.), *Advances in Photosynthesis and Respiration Series*, Springer Science + Business Media, Dordrecht, The Netherlands, pp. 417–433.

Costa, L., Montano, Y., Carrión, C., Rolny, N., Guamet, J.J., 2013b. Application of low intensity light pulses to delay postharvest senescence of *Ocimum basilicum* leaves. *Postharvest Biol. Technol.* 86, 181–191.

Del Pino, M., 2014. Guía de cultivo y manejo del Brócoli. Curso de Horticultura y Floricultura. FCAyF. Material editado por el Centro de Estudiantes de la Facultad de Cs. Agrarias y Forestales.

Downs, C.G., Somerfield, S.D., Davey, M.C., 1997. Cytokinin treatment delays senescence but not sucrose loss in harvested broccoli. *Postharvest Biol. Technol.* 11, 93–100.

Eckert, M., Kaldenhoff, R., 2000. Light – induced stomatal movement of selected *Arabidopsis thaliana* mutants. *J. Exp. Bot.* 51 (349), 1435–1442.

Gebhardt, S.E., Matthews R.H., 1981. Nutritive value of foods. USDA-HNIS, Home and garden Bull. 72. U.S. Government Printing Office, Washington, DC, U.S.A. 72p.

Gergoff Grozeff, G., Chaves, A., Bartoli, C., 2013. Low irradiance pulses improve postharvest quality of spinach leaves (*Spinacia oleracea* L. cv Bison). *Postharvest Biol. Technol.* 77, 35–42.

Gibson, S., 2005. Control of plant development and gene expression by sugar signaling. *Curr. Opin. Plant Biol.* 8, 93–102.

Hasperué, J.H., Chaves, A.R., Martínez, G.A., 2011. End of day harvest delays postharvest senescence of broccoli florets. *Postharvest Biol. Technol.* 59, 64–70.

Hasperué, J.H., Guardianelli, L., Rodoni, L.M., Chaves, A.R., Martínez, G.A., 2016. Continuous white-blue LED light exposition delays postharvest senescence of broccoli. *LWT– Food Sci. Technol.* 65, 495–502.

He, Y., Tang, W., Swain, J.D., Green, A.L., Jack, T.P., Gan, S., 2001. Networking senescence-regulating pathways by using *Arabidopsis* enhancer trap lines. *Plant Physiol.* 126, 707–716.

Holmes, M. G., Smith, H., 1975. The function of phytochrome in the natural environment. I Characterization of daylight for studies in photomorphogenesis and photoperiodism. *Photochem. Photobiol* 25, 533-538.

Holmes, M. G., Beggs, C. J., Jabben, M., Schfer, E., 1983. Hypocotyl growth in *Sinapis alba* L.: the roles of light quality and quantity. *Plant Cell Environ* 5, 45-51.

Hörtensteiner, S., Feller, U., 2002. Nitrogen metabolism and remobilization during senescence. *J. Exp. Bot.* 53, 927–937.

Hörtensteiner, S., 2006. Chlorophyll degradation during senescence. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57, 55–77.

Hörtensteiner, S., Kräutler, B., 2011. Chlorophyll breakdown in higher plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1807(8), 977–988. doi:10.1016/j.bbabi.2010.12.007

Irving, D.D., Joyce, D.C., 1995. Sucrose supply can increase longevity of broccoli (*Brassica oleracea*) branchlets kept at 22 °C. *Plant Growth Regul.* 17, 251–256.

Jeffery E.H., Brown A.F., Kurilich A.C., Keck A.S., Matusheski N., Klein B.P., Juvik J.A., 2003. Variation in content of bioactive components in broccoli. *Journal of Food Composition and Analysis* 16 (2003) 323–330.

Jia, C.G., Xu, C.J., Wei, J., Yuan, J., Yuan, G.F., Wang, B.L., 2009. Effect of modified atmosphere packaging on visual quality and glucosinolates of broccoli florets. *Food Chem.* 114 (1), 28–37.

Jin, P., Yao, D., Xu, F., Wang, H., Zheng, Y., 2015. Effect of light on quality and bioactive compounds in postharvest broccoli florets. *Food Chem.* 172, 705–709.

Jones, R.B., Faragher, J.D., Winkler, S., 2006. A review of the influence of postharvest treatments on quality and glucosinolate content in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) heads. *Postharvest Biol. Technol.* 41, 1–8.

King, G.A., Morris, S.C., 1994. Early compositional changes during postharvest senescence of broccoli. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119 (5), 1000–1005.

Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227, 680–685.

Lester, G.E., Makus, D.J., Hodges, D.M., 2010. Relationship between fresh-packaged spinach leaves exposed to continuous light or dark and bioactive contents: effects of cultivar, leaf size, and storage duration. *J. Agric. Food Chem.* 58, 2980–2987.

Li, Q.-H., Yang, Q., 2007. Cryptochrome signaling in plants. *Photochem. Photobiol.* 83, 94–101.

Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.* 148, 350–382.

Liebsch, D., Keech, O., 2016. Dark-induced leaf senescence: new insights into a complex light-dependent regulatory pathway. *New Phytol.* 212, 563–570.

Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S.L., 2000. *Molecular Cell Biology*, 4th ed. W.H. Freeman, New York, Section 16.5, CO₂ Metabolism during Photosynthesis. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21472/>.

Ma, G., Zhang, L., Setiawan, C.K., Yamawaki, K., Asai, T., Nishikawa, F., Maezawa, S., Sato, H., Kanemitsu, N., Kato, M., 2014. Effect of red and blue LED light irradiation on ascorbate content and expression of genes related to ascorbate metabolism in postharvest broccoli. *Postharvest Biol. Technol.* 94, 97–103.

Masclaux-Daubresse C., Havé M., Marmagne A., Chardon F., 2016. Nitrogen remobilisation during leaf senescence: lessons from Arabidopsis to crops. *Journal of Experimental Botany*, Volume 68, Issue 10, 1 May 2017, Pages 2513–2529.

Page, T., Griffiths, G., Buchanan-Wollaston, V., 2001. Molecular and biochemical characterization of postharvest senescence in broccoli. *Plant Physiol.* 125, 718–727.

Perini, M., Sin, I., Reyes Jara, A., Gomez Lobato, M.E., Civello, P.M., Martínez, G.A., 2017. Hot water treatments performed in the base of the broccoli stem reduce postharvest senescence of broccoli (*Brassica oleracea* L. var *italica*) heads stored at 20 °C. *LWT—Food Sci. Technol.* 77, 314–322.

Piao, W., Kim, E., Han, S., Sakuraba, Y., Paek, N., 2015. Rice phytochrome B (OsPhyB) negatively regulates dark- and starvation-induced leaf senescence. *Plants* 4, 644–663.

Quail, P.H., 2002. Photosensory perception and signalling in plant cells: new paradigms?. *Curr. Opin. Cell Biol.* 14, 180–188.

Rosa, E., David, M., Gomes, M., 2001. Glucose, fructose and sucrose content in broccoli, white cabbage and Portuguese cabbage grown in early and late seasons. *J. Sci. Food Agric.* 81, 1145–1149.

Southgate, D.A.T., 1976. *Determination of Food Carbohydrates*. Appl. Science Publ. Ltd., London, 128–129.

Smith, H., 1982. Light quality, photoperception and plant strategy. *Ann Rev Plant Physiol* 33, 481-518.

Stoppani M I y Francescangeli N., 2000. *El brócoli y su potencial: hortaliza top del tercer milenio*. INTA EEA San Pedro.

Taiz, L. y Zeiger, E., 2004. *Phytochrome and Light Control in of Plant Development*. Chapter 17, in *Plant Physiology*. 3rd Ed.

Thomas, B., 1991. Phytochrome and photoperiodic induction. *Physiol Plantarum* 81, 571-577.

Toivonen, P.M., Forney, Ch., 2016. Broccoli in the commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks. In: Gross, Kenneth C., Wang, Chien Yi, Saltveit, Mikal (Eds.), Agriculture Handbook Number 66. Agricultural Research Service.

Wingler, A., Roitsch, T., 2008. Metabolic regulation of leaf senescence: interactions of sugar signalling with biotic and abiotic stress responses. *Plant Biol.* 10 (1), 50–62.

Wingler, A., Purdy, S., MacLean, J.A., Pourtau, N., 2006. The role of sugars in integrating environmental signals during the regulation of leaf senescence. *J. Exp. Bot.* 57, 391–399.

Yuan, G., Sun, B., Yuan, J., Wang, Q., 2010. Effect of 1-methylcyclopropene on shelf life, visual quality antioxidant enzymes and health-promoting compound in broccoli florets. *Food Chem.* 118, 774–781.

Zavaleta-Mancera H.A., Franklin K.A., Ougham, H.J., Thomas, H., Scott, I.M., 1999. Regreening of senescent *Nicotiana* leaves. I. Reappearance of NADPH-protochlorophyllide oxidoreductase and light-harvesting chlorophyll a/b-binding protein. *J. Exp. Bot.* 50: 1677-1682.

Zhan, L.J., Hu, J.Q., Li, Y., Pang, L.G., 2012. Combination of light exposure and low temperature in preserving quality and extending shelf-life of fresh-cut broccoli (*Brassica oleracea* L.). *Postharvest Biol. Technol.* 72, 76–81.

Páginas de Internet:

http://www.regmurcia.com/servlet/s.SI?sit=c,543,m,2714&r=ReP-20160-DETALLE_REPORTAJESPADRE (2018).

<https://www.agroboca.com/especies-frutas-verduras/brocoli> (2018).

Material didáctico emitido y actividades relacionadas con el trabajo final:

- ✓ **Pulses of low intensity light as promising technology to delay postharvest senescence of broccoli.** Favre Noelia, Bárcena Alejandra, Vera Bahima Jose, Martínez Gustavo, Costa Lorenza. *Postharvest Biology and Technology*, 2018. Editorial ELSEVIER, Amsterdam, Holanda. ISSN: 09255214.
- ✓ **“Tratamientos con luz de baja intensidad para retrasar la senescencia durante el almacenamiento de brócoli a temperatura ambiente: ¿clorofilas o fitocromos?”** Favre Noelia, Bárcena Alejandra, Vera Bahima Jose, Martínez

Gustavo, Costa Lorenza. Libro de trabajos completos del I Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha, 2018.

- ✓ **Tratamientos con luz de baja intensidad retrasan la senescencia durante el almacenamiento de brócoli a temperatura ambiente: ¿clorofilas o fitocromos?** Favre Noelia, Bárcena Alejandra, Vera Bahima Jose, Martínez Gustavo, Costa Lorenza. I Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha, 2017. Presentación oral y presentación de poster.
- ✓ **Beca de experiencia laboral: Pulsos de luz como estrategia para retrasar la senescencia postcosecha de brócoli.** Docente a cargo: Dra. Lorenza Costa. Fecha de inicio: Marzo, 2017. Fecha de terminación: Octubre, 2017. Lugar de trabajo: INFIVE.
- ✓ **La luz blanca de baja intensidad durante el almacenamiento de brócoli a temperatura ambiente retrasa el amarillamiento.** Favre Noelia, Bárcena Alejandra, Vera Bahima Jose, Martínez Gustavo, Costa Lorenza. 39° Congreso Argentino de Horticultura, 2016. Presentación poster.