



## Plan de Gestión de Datos

### INFORMACIÓN SOBRE EL PROYECTO

#### 1. – Datos del Proyecto

##### - Título del Proyecto (en castellano)

**NUEVAS ALTERNATIVAS PARA EL MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD Y LA CONSERVACIÓN POSTCOSECHA DE TOMATE**

##### - Título del Proyecto (en inglés)

**NEW ALTERNATIVES FOR THE ENHANCEMENT OF TOMATO POSTHARVEST QUALITY AND PRESERVATION**

##### - Descripción del Proyecto (en castellano) Resumen

La calidad postcosecha del tomate es afectada por los procesos de maduración y deterioro, los cuales a su vez, están condicionados en parte por la variedad, la manipulación y la conservación del producto. El tomate es un fruto climatérico, ya que sufre un incremento abrupto de la respiración durante su maduración y presenta la capacidad de continuar madurando una vez cosechado, debido a la producción autocatalítica de etileno. A mayor tasa respiratoria y de producción de etileno, el deterioro de la calidad ocurre a mayor velocidad. La forma más efectiva de retrasar la maduración, a fin de garantizar una vida de estantería más prolongada es almacenándolo a bajas temperaturas, para disminuir la tasa respiratoria y la producción de etileno. Sin embargo, los tomates son sensibles al frío a temperaturas inferiores a 10°C, lo que genera daño por enfriamiento (DPE). La conservación a bajas temperaturas adecuadas resulta muy costosa para los últimos eslabones del mercado. Los comercios minoristas almacenan el tomate en heladeras estándares (a 4 °C), lo que termina provocando DPE, o en condiciones ambientales, lo que promueve una maduración acelerada. Esta situación conlleva a grandes pérdidas económicas, que en Santa Fe supera el 5%. Es por ello, que es relevante investigar sobre tratamientos alternativos que permitan potenciales tecnologías para cubrir las necesidades de un sector con baja infraestructura, dado el manejo postcosecha local. En las últimas dos décadas, la ciencia ha tendido a enfocarse en la evaluación de sustancias de origen natural como posibles tratamientos alternativos, por ser inocuas y amigables con el medio ambiente y la salud humana. Tales son los casos del ácido salicílico (AS) y la melatonina, moléculas reportadas como e inhibidoras de procesos de los procesos de maduración, deterioro y senescencia en diferentes productos frutihortícolas. Dados estos antecedentes, el AS y la melatonina podrían ser potenciales tratamientos postcosecha en tomate, innovadores y competitivos, tanto por sus potencialidades como por sus bajos costos en el mercado. En base a todo lo expuesto, el objetivo de nuestro proyecto es comparar el comportamiento postcosecha de distintas variedades de tomate y evaluar nuevos tratamientos (AS y



melatonina) como potenciales métodos para retrasar la maduración y el deterioro postcosecha de esta hortaliza de fruto, determinando cómo los mismos afectan la fisiología y calidad postcosecha y la susceptibilidad al DPE.

**- Descripción del Proyecto (en inglés) Resumen**

The tomato postharvest quality is affected by the ripening and deterioration processes, which at the same time, are partially conditioned by the cultivar, handling and preservation of the produce. The tomato is a climacteric fruit, since it suffers an abrupt increase in respiration during its ripening and presents the ability to continue ripening once harvested, due to the autocatalytic production of ethylene. The higher respiratory rate and ethylene production, the faster quality deterioration rate. The most effective way to delay ripening, in order to guarantee a longer produce shelf life, is to store it at low temperatures, to decrease the respiratory and ethylene production rates. However, tomatoes are cold sensitive at temperatures below 10 °C, which causes chilling injury. Preservation at suitable low temperatures is too expensive for the last links on the market. Retail stores store the tomato in standard refrigerators (at 4 °C, causing chilling injury) or under environmental conditions (promoting accelerated ripening). This situation leads to large economic losses, which in Santa Fe province exceed 5%. For this reason, it is relevant to investigate alternative treatments that allow potential technologies to cover the needs of a sector with low infrastructure, considering local post-harvest management. In the last two decades, science has tended to focus on assessing natural substances as possible alternative treatments, as they are harmless and friendly to the environment and human health. Such are the cases of salicylic acid (AS) and melatonin, molecules reported as inhibitors of maturation, deterioration and senescence processes of different fruit and vegetable produce. Considering this background, AS and melatonin could be potential innovative and competitive post-harvest treatments in tomato, for both their potential and their low costs in the market. Based on the above, the aim of our project is to compare the post-harvest behavior of different tomato cultivars and to evaluate new treatments (AS and melatonin) as potential methods to delay the ripening and post-harvest deterioration of this produce, determining how they affect the postharvest physiology and quality and the susceptibility to chilling injury.

**- Palabras Claves descriptivas del Proyecto (en castellano)**

Tomate; Postcosecha,  
Daño por enfriamiento

**- Palabras Claves descriptivas del Proyecto (en inglés)**

Tomato, Postharvest,  
Chilling injury

**2 – Datos del Director/ar del Proyecto**

**- Nombre y Apellido**

Verónica Eugenia Ruiz

**- Unidad Académica**

Facultad de Ciencias Agrarias

**- Teléfono oficial de contacto**



03496 426400
<b>-Teléfono móvil de contacto</b>
03496- 15417342
<b>-E-mail del Director/a del Proyecto</b>
vero_eikon5@hotmail.com

## DATOS RESULTANTES DE LA EJECUCIÓN DEL PROYECTO

### -Describe la toma de muestras / datos a realizar

#### Diseño experimental

Los experimentos serán arreglados en parcelas divididas sobre la base de un diseño completamente aleatorizado con tres repeticiones.

#### Material vegetal

Se utilizarán semillas de tomate de diferentes variedades provistas por el banco de semillas Bioleft ([www.bioleft.org](http://www.bioleft.org)) de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires. Las semillas serán germinadas en bandejas multiceldas, rellenas con sustrato comercial compuesta de turba-perlita-vermiculita 70/20/10 v/v/v). El trasplante se realizará al aire libre cuando las plantas presenten el primer par de hojas verdaderas (aproximadamente 30 días de la siembra) en un suelo Argiudol típico, con una densidad de 2,8 plantas m<sup>-2</sup>. Se llevará a cabo riego localizado por goteo de acuerdo a lectura de dos tensiómetros distribuidos en el cultivo, a fin de mantener durante todo el ensayo un buen potencial hídrico. Para la fertilización se utilizarán el equivalente a 160 kg N ha<sup>-1</sup>, 40 kg P ha<sup>-1</sup> y 280 kg K ha<sup>-1</sup>. La conducción del cultivo se realizará con un tutor por planta, la que será podada para mantener un solo tallo.

La cosecha se realizará alrededor de los 90 días después del trasplante en estado de madurez de cosecha rojo, R (grado 6, USDA).

#### Tratamientos

##### Moléculas a evaluar

Para la evaluación de cada método se trabajará con 10 frutos por tratamiento por repetición (3 repeticiones). Los frutos cosechados se tratarán con melatonina 0,1-0,2 mM o AS 1-10 mM durante 5 min (Aghdam *et al.* 2017; Ruiz *et al.* 2018), por inmersión. Asimismo, se sumergirán frutos controles en agua destilada por igual período de tiempo. Luego los frutos se dejarán secar a temperatura ambiente y se incubarán durante 0, 24, 48 y 72 h a 20 °C. Al finalizar cada período de incubación se tomarán muestras de fruto para las determinaciones de parámetros de calidad y muestras para congelar a -20 °C, las cuales serán destinadas para determinaciones bioquímicas y moleculares.

##### Tratamientos de temperatura

Luego de haber aplicado los tratamientos con moléculas a evaluar o agua destilada, se aplicarán diferentes tratamientos de temperatura: 1) frutos expuestos a 20 °C



(controles); 2) frutos expuestos 10 °C (temperatura de almacenamiento recomendada); 3) frutos expuestos 4 °C (temperatura para inducir DPE). La aplicación de las diferentes temperaturas se realizará durante 10 d para los tres tratamientos y durante 20 d para un segundo lote de los tratamientos 2 y 3. Una vez completados los días bajo tratamientos de temperatura se llevarán los frutos durante 3 días a una temperatura de 24 °C (temperatura ambiente controlada con aire acondicionado).

### **Mediciones**

Inmediatamente cosechados y luego de completado los tratamientos (10 o 20 d, más 3 d a temperatura ambiente), se determinará el color de los frutos (usando colorímetro Minolta), su peso inicial (con balanza analítica) y su firmeza (con durómetro de Turoni). Asimismo se tomarán muestras para la determinación de fuga de electrolitos (como medida de daño en las membranas celulares, la cual será realizada a partir de muestras frescas) y muestras para llevar a -20 °C, para determinaciones de parámetros de calidad (sólidos solubles totales o SST, que indican el contenido de azúcares solubles y la acidez), determinaciones bioquímicas de peroxidación lipídica (indicador bioquímico de daño a nivel de las membranas celulares), contenido de calcio (vinculado a la estabilidad de las paredes celulares y la firmeza del fruto), ácido ascórbico (vitamina C), actividad antioxidante (como indicadores nutracéuticos del producto) y extracciones de ARN total para análisis de expresión génica de propiedades organolépticas. Además, después de los correspondientes tratamientos se evaluará el índice de DPE de acuerdo al método descrito por Ding *et al.*, (2002).

### **SST y Acidez**

A partir de jugo de frutos, se medirá la concentración de sólidos solubles totales (SST) mediante refractómetro digital y la acidez a través de la titulación del ácido cítrico, usando NaOH (0,1 N) como neutralizante y fenolftaleína como indicador.

### **Determinación del color**

El color superficial se determinará midiendo los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  usando colorímetro Minolta CR-400 (Osaka, Japón). A partir de estos parámetros se calculará el índice de color según la escala de HunterLab (1996).

### **Determinaciones bioquímicas**

El nivel de la peroxidación lipídica se realizará según lo describe Rice-Evans, *et al.* (1991) midiendo la concentración de especies reactivas del ácido tiobarbitúrico, con lectura espectrofotométrica a 535 nm (en espectrofotómetro UV-VIS Hitachi U2000).

El contenido de calcio se determinará mediante titulación analítica por el método descrito por AOAC (1970).

La determinación de ácido ascórbico se realizará por medio de un método espectrofotométrico descrito por Barros *et al.* (2010), con lectura de absorbancias a 515 nm y usando como control positivo jugo de limón.

La capacidad antioxidante se determinará utilizando el reactivo 2, 2'-azino-bis cromogénico (radical catión 3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato (ABTS · +) de acuerdo a



la técnica espectrofotométrica descrita por Miller y Rice-Evans (1993), con lectura de absorbancia a 734 nm.

### **Determinación de fuga de electrolitos**

La fuga de electrolitos se determinarán de acuerdo con el método de Zhao *et al.* (2009).

Para ello se medirá la conductividad (con conductímetro portátil) de una solución de manitol al 0,1 Mm, conteniendo muestras de tejido de tomate. Las mediciones se realizarán antes y después de llevar a hervor durante 15 minutos (con la finalidad de desnaturalizar las membranas celulares y liberar todos los solutos en la solución). La fuga de iones se calculará como la relación entre la conductividad medida al inicio sobre la conductividad medida al final de la determinación.

### **Análisis de expresión génica**

Estudios llevados adelante en el grupo de trabajo de la Dra. Dotto han identificado rutas de ARNs pequeños reguladores de diversos aspectos relacionados con el contenido de sólidos solubles, la firmeza, el desarrollo de color y el contenido de metabolitos secundarios de los frutos de tomate. Una vez identificados aquellos tratamientos que proporcionen los mejores resultados para la postcosecha de los frutos de tomate, se seleccionarán los ARNs pequeños adecuados, junto con los genes regulados por ellos para realizar el análisis de expresión génica. Para esto se realizará la extracción de ARN total a partir de frutos control y tratados utilizando el reactivo Quick-zol (Kalium Technologies) y se seguirán las instrucciones del fabricante. Luego se verificará la integridad del ARN extraído usando geles de agarosa 1% p/v y se cuantificará usando medidas de absorbancia a 260 nm y comparaciones de los cocientes entre los valores de absorbancia 260 nm/230 nm y 260 nm/280 nm para evaluar la pureza del ARN. Para esto se diseñarán oligonucleótidos para realizar reacciones de Real Time PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real) adaptadas para la evaluación de la acumulación de ARNs pequeños (Varkonyi-Gasic *et al.*, 2007). Para las extracciones de ARN se utilizarán mezclas de al menos tres frutos en cada una de tres réplicas biológicas de los frutos de grupos control y tratado.

### **Índice de DPE**

Se realizarán evaluaciones de síntomas de DPE, consistentes en determinar la densidad de punteados superficiales, de acuerdo al método de Ding *et al.*, (2002), para la determinación del índice de daño por frío (IDF):

$$IDF = \frac{\sum(Nivel DF) * (N^{\circ} frutos Nivel DF)}{N^{\circ} total frutos}$$

Donde DF es: 0 = sin punteado; 1= punteado cubriendo < 25% superficie del fruto; 2=punteado cubriendo de 25% a 50% la superficie; 3=punteado cubriendo >50% a 75% la superficie; y 4=punteado cubriendo > 75% de la superficie.



### **Análisis de los datos**

Se realizará un análisis de la varianza (ANOVA) con el software Infostat. Las diferencias entre las medias serán estimados mediante una prueba de Tukey, considerándose diferencias significativas a un valor de  $P < 0,05$ .

### **Lugares donde se llevarán a cabo las actividades**

Las actividades de este plan de trabajo están programadas a lo largo de 12 trimestres. Las tareas de búsqueda bibliográfica se realizarán en las instalaciones de la FCA UNL, para poder acceder a bases de datos y plataformas digitales científicas que permitan descargar publicaciones en forma gratuita. Las labores de siembra, trasplante, manejo de cultivo y cosecha se realizarán en el Campo Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNL (S31°23'59", W60°53'58"), Esperanza, provincia de Santa Fe.

Las actividades de laboratorio se realizarán en el Laboratorio de Productos Bioactivos y Aplicaciones Agrosustentables (LaPBiAgro) y en el Laboratorio de Biología Evolutiva y Molecular de Plantas (BEMP), ambos de la ICIAgro (FCA-UNL-CONICET), Esperanza, Santa Fe.

### **Bibliografía**

Aghdam, M.S., Fard, J.R. 2017. Melatonin treatment attenuates postharvest decay and maintains nutritional quality of strawberry fruits (*Fragaria × ananassa* cv. Selva) by enhancing GABA shunt activity. *Food Chem* 221, 1650-1657.

AOAC. 1970. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist 11th Ed. Washington, D.C. US Government Printing Office.

Barros, A.I., Silva, A.P., Gonçalves, B., Nunes, F.M. 2010. A fast, simple, and reliable hydrophilic interaction liquid chromatography method for the determination of ascorbic and isoascorbic acids. *Anal Bioanal Chem* 396, 1863 -1875.

Ding, C.K., Wang, C.Y., Gross, K.C., Smith, D.L. 2002 Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. *Planta* 214, 895-901.

HunterLab, Hunter Lab Color scale, Insight on color, 8, Hunter Associates Laboratories, Reston, VA, USA 1996, pp. 1-4.

Miller, N.J., Rice-Evans, C., Davies, M.J., Gopinathan, V., Milner, A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci* 84, 407-412.

Rice-Evans, C.A., Diplock, A.T., Symins, M.C.R. 1991. Methods for TBA-reaction. In





R.H. Burdon, P.H. van Knippenderg (Eds.), Vol. 22. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology (pp. 147-149). Amsterdam: Elsevier.

Ruiz, V., Bouzo, C.A., Bender, A., Martínez, G. 2018. El ácido salicílico retrasa la senescencia durante la postcosecha de brócoli. XXXII Reunión Argentina / XVI Congreso Latinoamericano de Fisiología Vegetal. pp 66.

USDA. 1975. The California tomato board. Ripening stages for tomatoes. USDA visual aid.

Varkonyi-Gasic, E., Wu, R., Wood, M., Walton, E. F., Hellens, R. P. 2007. Protocol: a highly sensitive RT-PCR method for detection and quantification of microRNAs. Plant Methods 3, 12

**– Datos: ¿Existe alguna razón por la cual los datos declarados no deban ser puestos a disposición de la comunidad/ser de acceso público? (marque X)**

<b>X</b>	<b>NO</b>
	<b>SI. Elija una de las opciones:</b>
	a) Se encuentra en evaluación de protección por medio de patentes
	b) No se inició el proceso de evaluación de patentabilidad, pero podría ser protegible
	c) Existe un contrato con un tercero que impide la divulgación
	d) Otro. Justifique.

**– Período de Confidencialidad: Es el período durante el cual los datos no deberían ser publicados, contado a partir del momento de la toma de los mismos. El período máximo para la no publicación es de 5 (CINCO) años posteriores a su obtención. Luego de este periodo, los datos estarán disponibles para la comunidad/serán de acceso público.**  
Si Ud. considera que este tiempo es insuficiente, y necesita prorrogar el período de confidencialidad, indique sus motivos y la cantidad de años adicionales que considera necesarios. Marque su opción con "X".

	<b>1 (UN) año</b>
	<b>2 (DOS) años</b>
	<b>3 (TRES) años</b>
	<b>4 (CUATRO) año</b>
	<b>5 (CINCO) años</b>
	<b>Otro.</b>
	<b>Motivos:</b>

**100** 2019 ·  
Año del Centenario  
de la Universidad  
Nacional del Litoral



A handwritten signature in blue ink, appearing to read "V. Ruiz", on a white rectangular piece of paper.

Dra. Verónica E. Ruiz  
Directora