

INFLUENCIA DE PROMOTORES DE OXIDACIÓN CONTROLADA EN HORTALIZAS Y SU RELACIÓN CON ANTIOXIDANTES

H. Ramírez ^{1¶}; J. H. Rancaño-Arrijoa¹; A. Benavides-Mendoza¹;
R. Mendoza-Villarreal²; E. Padrón-Corral³

¹Departamento de Horticultura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, MÉXICO. Correo-e: homeror@terra.com.mx (¶Autor responsable).

²Departamento de Ciencias Básicas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, MÉXICO.

³Centro de Investigación en Matemáticas Aplicadas. Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coahuila, MÉXICO.

RESUMEN

Se aplicaron soluciones de ácido salicílico (AS) 10^{-6} M, ácido benzoico (AB) 10^{-6} M y quitosán (Q) al 1 %, los cuales actúan como promotores de oxidación controlada (POC), sobre plantas de acelga, coliflor, brócoli y repollo, cultivadas bajo invernadero en la primavera del año 2004. El objetivo fue conocer los efectos de estos compuestos sobre variables fenotípicas y el nivel de antioxidantes en hortalizas. Las variables evaluadas fueron: altura de planta, longitud de raíz, número de hojas, peso fresco, peso seco y nivel de antioxidantes. La influencia de los POC no mostró una tendencia consistente en la mayoría de las variables: la altura de la planta y la longitud de raíz no fueron afectadas en ninguna de las hortalizas; el número de hojas aumentó solamente en repollo al aplicar AB. El peso fresco total y de la parte aérea fue superior solo en repollo cuando se aplicó AB; el peso seco de la raíz aumentó en acelga con la aplicación de AB; en coliflor los compuestos indujeron una disminución de esta variable. Solamente acelga y repollo mostraron un incremento en la capacidad antioxidante total en respuesta a las aplicaciones de AS y Q, respectivamente. En coliflor no se registró ningún efecto de los tratamientos, mientras que en brócoli se encontró una disminución de la capacidad antioxidante total.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: alimentación y salud, fitoquímicos, antioxidantes, estrés.

INFLUENCE OF CONTROLLED OXIDATION PROMOTERS AND THEIR RELATION TO ANTIOXIDANTS IN HORTICULTURAL CROPS

ABSTRACT

We applied salicylic acid (AS) 10^{-6} M, benzoic acid (AB) 10^{-6} M and chitosan (Q) 1 % solutions, which act as controlled oxidation promoters (POC) on chard (*Beta vulgaris* L.), cv. Fordhock, cauliflower (*Brassica oleracea* var. Botritis), cv. Snow Ball, broccoli (*Brassica oleracea* var. Italica), cv. Di Cico and cabbage (*Brassica oleracea* var. Capitata) cv. Copenhagen Market, grown in the greenhouse during the spring 2004. The objective was to determine the effects of these compounds on phenotypic traits and antioxidant levels in horticultural plants. The traits evaluated were: plant height, root length, number of leaves, fresh and dry weight, and antioxidant levels; the latter was determined using the method reported by Miller *et al.* The influence of the POC did not show a consistent trend in most of the variables. Plant height and root length were not affected in any of the horticultural plants; leaf number increased only in cabbage when applying AB. Total and aerial portion fresh weight was only higher in cabbage when AB was applied. Root dry weight increased in chard when applying AB; the compounds induced lower root weight in cabbage. Only chard and cabbage showed an increase in total antioxidant ability as a response to applications of AS and Q, respectively. Cabbage did not show any effect of the compounds on antioxidant levels; while broccoli showed a decrease in total antioxidant ability.

ADDITIONAL KEY WORDS: feeding and health, plant chemicals, antioxidants, stress.

INTRODUCCIÓN

Las frutas y hortalizas utilizadas en la alimentación humana aportan agua, vitaminas, minerales y fibra, que

sumados al consumo de cereales, leguminosas y alimentos de origen animal, complementan el requerimiento diario para una alimentación que permita a las personas gozar de un pleno bienestar biológico, psicológico y social.

El cuerpo humano está expuesto al ataque de radicales libres, los cuales son moléculas altamente reactivas, generadas por las reacciones bioquímicas de oxidoreducción (redox) que ocurren como parte del metabolismo celular normal, y por la exposición a contaminantes ambientales como luz ultravioleta y humo de cigarro, entre otros. Los principales tipos de radicales libres son: radical superóxido ($\dot{y}O_2^-$), radical hidroxilo ($OH^\dot{y}$), radical oxido hiponitroso ($NO^\dot{y}$) y radical peroxilo ($ROO^\dot{y}$). Una vez formados, los radicales libres atacan las estructuras celulares dentro del cuerpo, provocando el envejecimiento y enfermedades degenerativas asociadas con el cáncer, arterosclerosis, diabetes, enfermedades respiratorias, daño al hígado, artritis reumatoide, cataratas, enfermedades inflamatorias del intestino, desórdenes del sistema nervioso central, mal de Parkinson, SIDA y otras (Rodríguez *et al.*, 2001; Devasagayam *et al.*, 2004).

Estudios epidemiológicos demuestran que el consumo de frutas y hortalizas tiene un efecto protector en muchos pacientes que han sobrevivido a estas enfermedades, ya que han mostrado una relación inversamente proporcional entre el consumo de hortalizas y la incidencia de estos desórdenes (Ames *et al.*, 1993; Steinmetz y Potter, 1996; Ness y Powels, 1997; Joshipura *et al.*, 1999). Se ha encontrado que muchos metabolitos secundarios sintetizados en las plantas, son una fuente de compuestos con capacidad antioxidante tales como tocoferoles, carotenoides, flavonoides, y vitamina C, entre otros, por lo que, recientemente se ha determinado el nivel de antioxidantes en frutas, hortalizas, especias, plantas medicinales y en alimentos procesados (Prior y Cao, 2000; Tosun y Ustum, 2003); sin embargo, la literatura relacionada con el impacto de prácticas agrícolas que modifiquen los niveles de metabolitos secundarios en las plantas, como los antioxidantes, es escasa (Asami *et al.*, 2003). Por otra parte, Kalt y Kushad (2000), señalan que el incremento de los niveles de antioxidantes de la dieta en frutas y hortalizas en precosecha es un área de gran interés y representa una oportunidad para los científicos de la agricultura. Benavides *et al.* (2002), mencionan que es posible manipular los mecanismos de defensa de las plantas y los niveles de fitoquímicos antioxidantes específicos por medio de la ingeniería genética, con la manipulación ambiental, o con la aplicación exógena de evocadores químicos que actúan como señalizadores y promotores de oxidación controlada (POC). Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue comparar los niveles de antioxidantes en acelga, coliflor, brócoli y repollo como respuesta a la aplicación de ácido salicílico, ácido benzoico, y quitosán, así como su efecto en el crecimiento y desarrollo de estos cultivos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y condiciones de cultivo

Este trabajo se desarrolló en un invernadero de la

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo, Coah., México, durante el período de enero a julio del 2004. Se utilizó semilla certificada de acelga (*Beta vulgaris* L.), cv. Fordhock, coliflor (*Brassica oleracea* var. Botritis), cv. Snow Ball, brócoli (*Brassica oleracea* var. Italica), cv. Di Cico y repollo (*Brassica oleracea* var. Capitata) cv. Copenhagen Market. Cada una de éstas se sembró, el 28 de enero del 2004, en cajas de poliestireno de doscientas cavidades con peat moss PREMIER BX® como sustrato. Las plántulas fueron trasplantadas el 23 de febrero, en bolsas de plástico negro de 25 x 30 cm con peat moss y arena (1:2) como sustrato; las bolsas se colocaron en camas de 0.90 x 13 m, a una densidad de población inicial de 32 plantas·m⁻² y se acomodaron durante el desarrollo del cultivo hasta alcanzar una densidad de población de 16 plantas·m⁻². El cultivo fue manejado de acuerdo con el paquete tecnológico utilizado en el Departamento de Horticultura de esta Universidad (Benavides, 2002).

Diseño experimental y tratamientos

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial A x B en donde los factores fueron las hortalizas; A: acelga, coliflor, brócoli y repollo, y los promotores de oxidación controlada; B: ácido salicílico (AS) 10⁻⁶ M, ácido benzoico (AB) 10⁻⁶ M, quitosán (Q) al 1 %, y el testigo sin aplicación, con cuatro repeticiones para el análisis de las variables hortícolas y dos para el análisis de antioxidantes. Se utilizó análisis de varianza y la prueba de comparación de medias de Tukey a una ($P \leq 0.05$).

Las aplicaciones se iniciaron cuando las plántulas tuvieron 8 y 10 hojas verdaderas, el 18 de marzo, y se continuaron haciendo cada dos semanas hasta el 30 de mayo. En cada aplicación de los tratamientos se agregó el surfactante líquido nonifenol (10) polioxiethylénico (Pego Del) a razón de 1 ml·litro⁻¹ de agua. El proceso experimental se dividió en dos fases:

Fase I. Influencia en el comportamiento hortícola

Las variables evaluadas fueron: altura de la planta, número de hojas por planta y peso fresco y peso seco total, de la parte aérea y de la raíz. Con excepción del peso seco, todas las variables referidas se determinaron secuencialmente en una serie de operaciones al momento de la cosecha: el número de hojas se determinó separando la hoja completa, desde el punto de inserción con el tallo de la planta, con una navaja Bahco K-AP-1; la altura de la planta se midió con una cinta métrica Pretul escala 0-3 m desde la base del tallo hasta el ápice de la planta y los resultados se registraron en cm. En seguida, las plantas se seccionaron en su componente aérea (hojas y tallos) y subterránea (raíz) para pesarlas por separado, en una balanza Ohaus® Modelo 729-434. Posteriormente, las plantas se colocaron en bolsas de papel y se secaron en un horno de secado Lindberg/blue® Modelo Nave Gravity Oven a 65 °C durante 48 h.

Fase II. Antioxidantes

Manejo de las muestras

Cuando las plantas de cada especie alcanzaron la madurez fisiológica (Ramírez *et al.*, 2005), se seleccionaron las hojas de cada tratamiento cortando la primera hoja más joven totalmente expandida. Se tomaron dos repeticiones de 4 hojas cada una por cada tratamiento, por lo que se analizó un total de 32 muestras, evitando las plantas de las orillas, para total competencia. Las muestras se depositaron en bolsas de polietileno transparente de 10 x 15 cm, previamente etiquetadas, y se guardaron en un termo con hielo. Posteriormente, se trasladaron al laboratorio para su análisis.

Obtención de extractos

En el laboratorio se tomaron las hojas y se seccionaron en tres partes. Se pesaron 5 g de la parte central de cada muestra, se colocaron en un mortero previamente congelado, al que se le agregó 10 ml de solución buffer de fosfatos 100 mM a pH 7 y se molió. El extracto obtenido se centrifugó a 973 g durante 10 min.

Método de análisis

La determinación de la concentración de antioxidantes se realizó mediante la utilización del kit "Total Antioxidant Status Kit Assay" de Calbiochem® (Miller *et al.*, 1993), el cual consta de una solución buffer (de fosfato salino); cromógeno (Metmioglobina y ABTS® (catión radical 2,2-Azinobis- (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato)); sustrato (peróxido de hidrógeno estabilizado) y como estándar se utilizó el análogo de la vitamina E, Trolox (6-Hidroxi-2, 5, 7,8-tetrametil croman-2-ácido carboxílico) 1.7 mM.

Preparación de reactivos

Para realizar el análisis de las muestras se prepararon los tres reactivos incluidos en el kit de la siguiente manera: al cromógeno y al sustrato se le agregaron 10 ml y 7.5 ml de buffer de fosfatos a pH 7.0, respectivamente; al estándar se le agregó 1 ml de agua destilada.

Medición de antioxidantes

Del extracto obtenido con la solución buffer, después de la centrifugación, se tomaron 20 ì l del sobrenadante de cada muestra en los diferentes tratamientos y testigos, lo cual se realizó de la siguiente manera: el sustrato (H₂O₂) y el cromógeno se mantuvieron a 37 °C antes de realizar la lectura, en un espectrofotómetro Leits modelo 340800. Primero se preparó un blanco, agregando 20 ì l de agua doblemente desionizada en una celda más 1 ml del cromógeno. En otra celda, se agregaron 20 ì l del estándar (Trolox), más 1 ml de cromógeno, y se leyó la absorbancia

inicial en ambas celdas. Posteriormente, se analizaron los extractos de hojas de los cuatro cultivos colocando 20 ì l de extracto, 1 ml de cromógeno y 200 ì l del sustrato (H₂O₂) para cada muestra. La absorbancia (A) se midió después de tres minutos del desarrollo de color. La temperatura se mantuvo a 37 °C durante toda la prueba. Para calcular los niveles de antioxidantes, en las muestras se usó la concentración del estándar Trolox (1.7 mM) de acuerdo con el kit utilizado. Se calculó para las muestras, el estándar y el blanco: $\Delta A = A - A_0$. Después se calculó la Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox ("CAET), en cada muestra, usando la fórmula siguiente:

$${}^{\text{CAET}}(\text{mM}) = \frac{1.7 \text{ mM} * (\Delta A \text{ del blanco} - \Delta A \text{ del muestra})}{(\Delta A \text{ del blanco} - \Delta A \text{ del estándar})} (10 \text{ mg peso fresco})$$

El resultado de cada muestra se expresó como mM de Equivalente Trolox·mg⁻¹ de peso fresco de muestra.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento hortícola

La altura de planta no fue afectada por los POC en ninguna de las hortalizas, solamente se observaron diferencias por efecto de la especie ($P \leq 0.05$): brócoli mostró mayor altura, seguido por acelga, coliflor y repollo (Cuadro 1 y 2).

El número de hojas formadas en respuesta a las aplicaciones de los señalizadores del estrés no mostró diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en acelga, coliflor y brócoli; sin embargo, en repollo hubo un aumento aproximadamente de 10 hojas cuando se aplicó ácido benzoico, pero disminuyó 11 y 17 hojas con relación al testigo cuando se aplicaron Q y AS, respectivamente ($P \leq 0.05$) (Cuadro 1). El número de hojas por efecto de la especie fue mayor en repollo, con aproximadamente 8, 18 y 26 hojas más por planta que coliflor, brócoli y acelga ($P \leq 0.05$) (Cuadro 2).

La longitud de la raíz no fue afectada por la aplicación de los POC, solamente se registraron pequeñas diferencias por efecto de cada especie de hortaliza: repollo mostró una longitud de raíz 4.46 cm mayor que acelga y 5.15 cm mayor que brócoli y coliflor ($P \leq 0.05$) (Cuadro 1 y 2).

El peso fresco total y el peso fresco de la parte aérea de la planta no fueron afectados por los POC en acelga, coliflor y brócoli; sin embargo, en repollo se observó un aumento del peso fresco total de 157 g cuando se aplicó AB, y una disminución de 113 y 213 g al aplicar Q y AS, respectivamente. El peso fresco de la parte aérea en esta hortaliza mostró un comportamiento similar a la variable anterior al superar en 135 g al testigo cuando se aplicó AB, pero disminuyó 94 y 177 g, respectivamente, cuando se aplicaron Q y AS, con relación al testigo ($P \leq 0.05$) (Cuadro 1). Por efecto de la especie, acelga y coliflor mostraron el

CUADRO 1. Efecto de aplicaciones foliares de los promotores de oxidación controlada: ácido salicílico (AS), ácido benzoico (AB), quitosán (Q) sobre variables fenotípicas de cuatro hortalizas.

Tratamiento	ALT (cm)	LR (cm)	NH	PFT (g)	PFA (g)	PFR (g)	PST (g)	PSA (g)	PSR (g)
Acelga									
AS 10 ⁻⁶ M	57.69 ^{NS}	30.50 ^{NS}	15.50 a ^z	852.00 a	697.95 a	154.00 a	101.00 ^{NS}	68.25 ^{NS}	32.75 b
AB 10 ⁻⁶ M	53.97 ^{NS}	35.63 ^{NS}	14.75 a	873.25 a	705.85 a	167.25 a	128.00 ^{NS}	85.00 ^{NS}	42.25 a
Q al 1 %	57.72 ^{NS}	37.00 ^{NS}	15.25 a	931.00 a	755.35 a	175.75 a	115.00 ^{NS}	75.75 ^{NS}	39.25 ab
Testigo	60.20 ^{NS}	31.00 ^{NS}	13.75 a	836.75 a	682.88 a	153.75 a	112.50 ^{NS}	77.50 ^{NS}	34.75 ab
Coliflor									
AS 10 ⁻⁶ M	33.73 ^{NS}	33.13 ^{NS}	30.25 a	838.75 a	699.35 a	139.50 b	108.50 ^{NS}	88.25 ^{NS}	19.75 c
AB 10 ⁻⁶ M	28.75 ^{NS}	30.00 ^{NS}	34.75 a	896.50 a	738.18 a	158.25 ab	147.25 ^{NS}	118.25 ^{NS}	28.50 ab
Q al 1 %	32.60 ^{NS}	33.50 ^{NS}	30.25 a	855.50 a	708.08 a	147.00 ab	121.50 ^{NS}	96.75 ^{NS}	24.75 bc
Testigo	31.75 ^{NS}	34.75 ^{NS}	31.75 a	958.75 a	782.18 a	176.75 a	148.00 ^{NS}	112.00 ^{NS}	35.75 a
Brócoli									
AS 10 ⁻⁶ M	72.30 ^{NS}	36.50 ^{NS}	21.50 a	630.50 a	533.17 a	97.50 a	104.50 ^{NS}	94.25 ^{NS}	9.75 a
AB 10 ⁻⁶ M	70.13 ^{NS}	30.75 ^{NS}	23.25 a	710.50 a	594.48 a	116.00 a	108.75 ^{NS}	91.00 ^{NS}	17.25 a
Q al 1 %	67.85 ^{NS}	31.75 ^{NS}	19.75 a	601.00 a	506.35 a	94.50 a	97.50 ^{NS}	84.75 ^{NS}	12.25 a
Testigo	69.20 ^{NS}	32.13 ^{NS}	24.00 a	634.25 a	535.60 a	98.75 a	108.50 ^{NS}	97.25 ^{NS}	10.75 a
Repollo									
AS 10 ⁻⁶ M	15.58 ^{NS}	38.45 ^{NS}	28.00 c	479.50 c	404.93 c	74.50 c	52.00 ^{NS}	41.00 ^{NS}	10.75 a
AB 10 ⁻⁶ M	19.50 ^{NS}	38.30 ^{NS}	55.25 a	849.75 a	716.18 a	133.50 a	70.50 ^{NS}	58.00 ^{NS}	12.00 a
Q al 1 %	19.13 ^{NS}	38.30 ^{NS}	33.75 c	579.25 bc	487.85 bc	91.00 bc	62.75 ^{NS}	49.75 ^{NS}	12.50 a
Testigo	15.25 ^{NS}	36.90 ^{NS}	44.50 b	692.50 ab	581.53 ab	111.00 ab	69.50 ^{NS}	54.50 ^{NS}	14.75 a

^zValores con la misma letra dentro de cada columna y especie son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

*Cada valor representa la media de cuatro plantas. En cada caso se incluyen los datos para el testigo (T).

ALT: Altura de planta; LR: Longitud de raíz; NH: Número de hojas; PFT: Peso de materia fresca total; PFA: Peso fresco aéreo; PFR: Peso de materia fresca de raíz; PST: Peso de materia seca total; PSA: Peso seco aéreo; PSR: Peso de materia seca de raíz.

^{NS}Diferencias no significativas por columna.

CUADRO 2. Variables fenotípicas PARA cuatro hortalizas en respuesta al efecto general de la aplicación de promotores de oxidación controlada, en Saltillo, Coah., México, 2004. Cada valor representa la media de 16 plantas.

Hortalizas	ALT (cm)	LR (cm)	NH	PFT (g)	PFA (g)	PFR (g)	PST (g)	PSA (g)	PSR (g)
Acelga	57.39 b ^z	33.53 ab	14.81 d	873.25 a	710.51 a	162.69 a	114.19 b	76.63 c	37.25 a
Coliflor	31.71 c	32.84 b	31.75 b	887.38 a	710.97 a	155.38 a	131.31 a	103.81 a	27.19 b
Brócoli	69.87 a	32.84 b	22.13 c	644.06 b	542.40 b	101.69 b	104.81 b	91.81 b	12.50 c
Repollo	17.36 d	37.99 a	40.38 a	650.25 b	547.62 b	102.50 b	63.69 c	50.81 d	12.50 c

^zValores con la misma letra dentro de columnas, son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

ALT: Altura de planta; LR: Longitud de raíz; NH: Número de hojas; PFT: Peso fresco total; PFA: Peso fresco aéreo; PFR: Peso fresco de raíz; PST: Peso seco total; PSA: Peso seco aéreo; PSR: Peso de seco de raíz.

mayor peso fresco total y de la parte aérea, con 233 y 166 g más por planta, respectivamente, que brócoli y repollo. El AB provocó un peso fresco total igual al testigo mientras que Q y AS provocaron una disminución de 86 g con respecto al testigo.

El peso fresco de la raíz de acelga y brócoli no fue afectado por los POC; en coliflor el efecto de Q y AB fue estadísticamente igual ($P \leq 0.05$), pero disminuyó en 24 g el peso fresco de raíz, y AS lo redujo 37 g con relación al testigo, mientras que en repollo el AB fue el mejor tratamiento

al superar en 23 g al testigo, los efectos de Q y AS fueron inferiores al testigo en 20 y 37 g, respectivamente (Cuadro 1). Acelga y coliflor mostraron el mayor peso fresco de raíz al superar en 57 g a brócoli y repollo, mientras que por efecto de los promotores de oxidación controlada en el total de las hortalizas el AB generó un aumento de 9 g, y Q y AS causaron una disminución de 8 y 16 g, respectivamente.

No se registró interacción entre las especies de hortalizas y los promotores de oxidación controlada sobre el peso seco total y de la parte aérea de las hortalizas

(Cuadro 1); sin embargo, si se observó diferencia al hacer la comparación de medias de los factores: coliflor fue la hortaliza con mayor peso seco total, al superar en 17, 27 y 68 g a acelga, brócoli y repollo, respectivamente; el AB provocó un aumento de peso seco total de 4 g superior al testigo, mientras que Q y AS generaron una disminución de 10 y 18 g, respectivamente, con relación al testigo ($P \leq 0.05$) (Cuadro 2). Coliflor también fue la hortaliza con mayor peso seco de la parte aérea, con 12, 27 y 53 g más que brócoli, acelga y repollo, el cual mostró un valor de aproximadamente la mitad de las hortalizas anteriores; el AB indujo un aumento de peso seco de la parte aérea en 3 g superior al testigo, mientras que Q y AS provocaron una disminución de 9 y 12 g, respectivamente, con relación al testigo ($P \leq 0.05$) (Cuadro 2). El peso seco de la raíz fue estadísticamente igual en brócoli y en repollo; en acelga, se encontró que el peso seco de raíz aumentó 8 g, al aplicar AB, Q fue estadísticamente igual al testigo y AS disminuyó 2 g. En coliflor se encontró que las aplicaciones de AB, Q y AS disminuyeron el peso seco de la raíz 7, 11 y 16 g con relación al testigo ($P \leq 0.05$) (Cuadro 1). Acelga mostró el mayor peso seco de raíz, 20 g más que coliflor y 25 g más que brócoli y repollo por efecto de la especie ($P \leq 0.05$) (Cuadro 2).

Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con lo que reportan Jung *et al.* (2004), quienes aplicaron ácido benzoico, salicílico, cafeico, clorogénico, ferúlico, p-hidroxibenzoico y vinílico a concentraciones de 50, 100, 150, 200 y 400 μ M en la solución nutritiva, y encontraron que a las concentraciones más altas, todos los compuestos redujeron significativamente tanto el peso fresco, como el peso seco en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), y no obtuvieron un patrón claro relacionando las dosis con respecto al número de hojas y longitud de plantas. Por el contrario, San Miguel *et al.* (2003), aplicaron AS en las concentraciones de 10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-8} y 10^{-10} M en *Pinus patula* y encontraron aumentos del peso fresco de los tallos en un 33 y 30 % con AS 10^{-8} y 10^{-6} M, respectivamente. Por otra parte, Barka *et al.* (2004), al aplicar dosis bajas de quitosán indujeron un aumento en el crecimiento de plántulas de *Vitis vinifera* L. y encontraron que la mejor concentración fue de 1.75 % (v/v), la cual aumentó el peso seco de brotes y de raíz, la longitud del tallo y el número de nudos. También aumentó 33 % el peso fresco de la raíz y el peso seco de la misma (45 a 54 %). Estas respuestas divergentes posiblemente se deban a la sensibilidad de los cultivos de acuerdo al genotipo, ya que se ha encontrado en coliflor que el número de hojas varía de 21 a 98 en un rango de genotipos (Wurr *et al.*, 1982); sin embargo, la base fisiológica de esta respuesta aún no ha sido bien identificada.

Nivel de antioxidantes en hortalizas

El método utilizado se basa en la habilidad de los antioxidantes contenidos en las muestras de los extractos de hortalizas para inhibir la oxidación del catión radical ABTS^{•+} a ABTS²⁺ por metmioglobina (una peroxidasa). Debido a que el kit utilizado en este estudio mide la capacidad antioxidante

efectiva del extracto, una concentración alta puede implicar una mayor capacidad antioxidante de la muestra (Guan y Whiteman, 2005).

En acelga, el AS generó la capacidad antioxidante total más alta, y superior al testigo en 3.51 % (Figura 1). Las plantas tratadas con Q y el testigo mostraron un comportamiento estadísticamente igual ($P \leq 0.05$), mientras que AB tuvo un efecto desfavorable al mostrar el nivel más bajo, de 8.33 % inferior al testigo. En coliflor (Figura 2), no hubo efecto de los compuestos aplicados, ya que no se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$). En brócoli (Figura 3), los promotores de oxidación controlada tuvieron un efecto desfavorable, ya que las plantas tratadas con AB, Q y AS mostraron una disminución del 4.15, 6.30 y 14.37 %, respectivamente, en comparación con el testigo ($P \leq 0.05$). En repollo (Figura 4) se mostró una respuesta favorable a la aplicación de Q; la capacidad antioxidante total va 85.74 % superior al testigo, mientras que el efecto de la aplicación de AS y AB fue estadísticamente igual ($P \leq 0.05$).

Debido a que los antioxidantes han sido estudiados por una variedad de disciplinas, desde la ciencia clínica hasta la ciencia de los polímeros, se han generado una diversidad de métodos, alrededor de 100, lo que hace difícil comparar los resultados y crea la necesidad de estandarizar los mismos (Felton, 2004). Sin embargo, los valores encontrados en esta investigación coinciden con lo que reportan Alonso *et al.* (2004), al usar el método ABTS^{•+} para medir la capacidad antioxidante en muestras de brandis (0.5 - 5.6 mM Trolox) y vinagres (0.1 - 2.9 mM Trolox) derivados de jerez. Por otra parte, Gil *et al.* (2000), al evaluar la capacidad antioxidante en jugo de granada encontraron valores de 2 a 18 mM Trolox.

La capacidad antioxidante de frutas y hortalizas puede ser influenciada por factores genéticos, así como por el ambiente. Prior *et al.* (1998), encontraron diferencias de hasta 3.3 veces entre especies y cultivares de arandano (*Vaccinium*

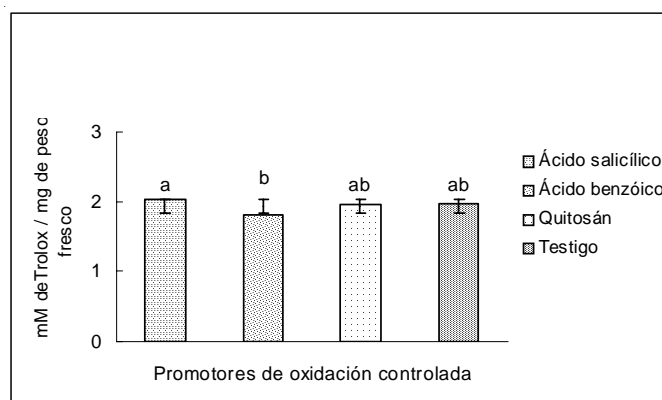


FIGURA 1. Efecto de promotores de oxidación controlada sobre la capacidad antioxidante equivalente a Trolox (CAET) en extractos de acelga cv. Fordhock. Letras iguales significan igualdad de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

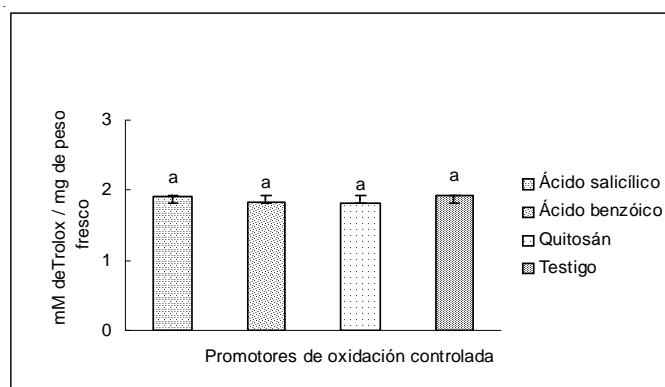


FIGURA 2. Efecto de promotores de oxidación controlada sobre la capacidad antioxidante equivalente a trolox (CAET) en extractos de coliflor cv. Snow Ball. Letras iguales significan igualdad de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

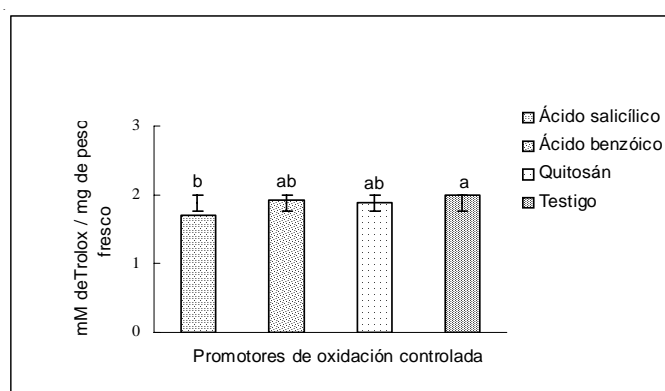


FIGURA 3. Efecto de promotores de oxidación controlada sobre la capacidad antioxidante equivalente a trolox (CAET) en extractos de brócoli cv. Di Cico. Letras iguales significan igualdad de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

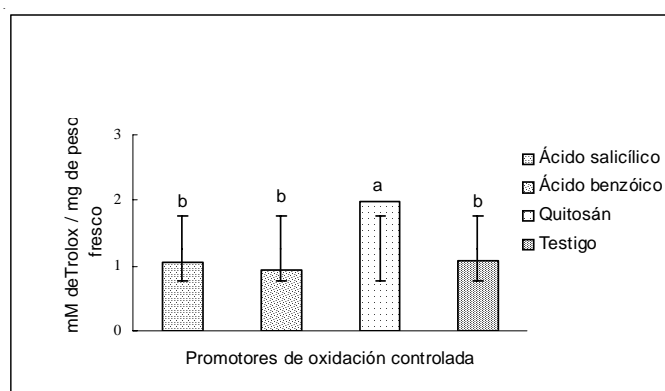


FIGURA 4. Efecto de promotores de oxidación controlada sobre la capacidad antioxidante equivalente a trolox (CAET) en extractos de repollo cv. Copenhagen Market. Letras iguales significan igualdad de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

miento verde (*Capsicum* spp.) y brócoli, respectivamente. Esta variabilidad entre hortalizas puede ser explicada por la influencia de la especie y el cultivar. Las soluciones de AS, AB y Q no mostraron una tendencia clara en cuanto al efecto en el nivel de antioxidantes en las hortalizas evaluadas, por lo que a futuro se deberá explorar un rango de varias concentraciones, además de incluir otras variables como la determinación de polifenoles totales, la cual es un indicador importante del estado antioxidante en frutas y hortalizas.

Cada promotor de oxidación controlada mostró un efecto particular en cada hortaliza, las Figuras 1 a 4 muestran que al aplicar AS 10^{-6} M se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre las cuatro hortalizas estudiadas: acelga mostró el valor más alto en cuanto a la capacidad antioxidante total con relación a todos los tratamientos, seguida por coliflor y brócoli, mientras que repollo mostró un valor tan bajo equivalente a la mitad del valor de la acelga. Cuando se aplicó AB 10^{-6} M, se encontró que acelga, coliflor y brócoli mostraron la mejor respuesta al registrar los valores de capacidad antioxidante total más elevados, los cuales fueron estadísticamente iguales ($P \leq 0.05$), y el repollo presentó el valor más bajo de todos los tratamientos (Figura 1 a 4).

Cuando se aplicó Q, el efecto sobre la capacidad antioxidante total fue estadísticamente igual ($P \leq 0.05$) para las cuatro hortalizas, a pesar de que repollo mostró el valor numérico más alto. Al comparar las medias de los valores de la capacidad antioxidante total en los testigos, se encontró que acelga, coliflor y brócoli mostraron los valores más altos, los cuales fueron estadísticamente iguales ($P \leq 0.05$), mientras que repollo mostró el valor más bajo, de aproximadamente la mitad de las demás hortalizas (Figuras 1 a 4). Al observar el efecto de la especie sobre el nivel de antioxidantes, se encontró que acelga, coliflor y brócoli presentaron las capacidades antioxidantes totales más altas (Figura 5), las cuales fueron estadísticamente iguales ($P \leq 0.05$); repollo mostró una capacidad antioxidante total 33.37 % menor a los cultivos anteriores. Las diferencias en el nivel de antioxidantes entre las especies de las plantas estudiadas pueden ser originadas por el contenido de diferentes fitoquímicos (carotenoides, polifenoles, indoles, etc) que se encuentran en cada especie. Sánchez *et al.* (2004), señalan que se estima que existen más de 8000 sustancias fitoquímicas en los alimentos, las cuales se encuentran presentes principalmente en frutas, verduras, aceite de oliva virgen o vino tinto, y se piensa que pueda existir un fenómeno de sinergia entre estos compuestos, que sea el que les confiera características antioxidantes y anticancerígenos, por lo que sería conveniente estudiar en el futuro, la relación entre la capacidad antioxidante total y el contenido de los principales fitoquímicos en estos alimentos.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados de esta investigación y bajo las condiciones en que se realizó, se concluye que la

corymbosum) y fresa (*Fragaria x ananassa* L.). También encontraron diferencias de 2, 6 y hasta 10 veces en la capacidad antioxidante entre cultivares de espinaca, pi-

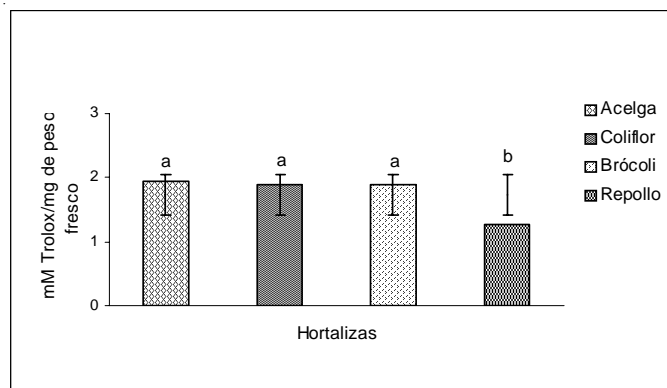


FIGURA 5. Efecto de la aplicación de promotores de oxidación controlada sobre la capacidad antioxidante equivalente a Trolox (CAET) en extractos de acelga, coliflor, brócoli y repollo. Letras iguales significan igualdad de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

aplicación de los compuestos estudiados provocan un efecto diferente en cada hortaliza: las aplicaciones de Ácido Salicílico 10^{-6} M reducen el número de hojas, peso fresco y peso seco en repollo, aumentan la capacidad antioxidante en acelga y la reducen en brócoli. Las aplicaciones de ácido benzóico 10^{-6} M inducen un aumento en el número de hojas y el peso fresco en repollo, aumentan el peso seco de raíz en acelga, disminuyen el peso fresco y peso seco de raíz en coliflor, y disminuyen la capacidad antioxidante en acelga y brócoli. Las aplicaciones de Quitosán al 1 % disminuyen el número de hojas, peso fresco y peso seco en repollo, disminuyen la capacidad antioxidante en brócoli y la aumentan en repollo.

LITERATURA CITADA

- ALONSO, A. M.; CASTRO, R.; RODRIGUEZ, M. C.; GUILLEN, D. A.; BARROSO, C. G. 2004. Study of the antioxidant power of brindies and vineyards derived from Sherry wines and correlations with their content in polyphenols. *Food Research International* 37: 715-721.
- AMES, B. M.; SHIGENA, M. K.; HAGEN, T. M. 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative disease of aging. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 90: 7915-7922.
- ASAMI, K. D.; HONG, Y. J.; BARRETT, D. M.; MITCHEL, A. E. 2003. Comparison of the Total Phenolic and Ascorbic Acid Content of Freeze-Dried and Air-Dried Marionberry, Strawberry, and Corn Grow Using Conventional, Organic, and Sustainable Agricultural Practices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 1237-1241.
- BARKA, E. A.; EULLAFFROY, P.; CLEMENT, C.; VERNET, G. 2004. Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinera*. *Plant Cell Rep.* 22: 608-614.
- BENAVIDES, M. A. 2002. *Ecofisiología y Bioquímica del Estrés de las Plantas*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 195 p.
- DEVASAGAYAM, T. P. A.; TILAK, J. C.; BOLDOOR, K. K.; SANE, K. S.; GHASKADBI, S. S.; LELE, R. D. 2004. Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. *Journal of the Association of Physicians of India* 52: 794-804.
- FELTON, J. M. 2004. LC-Now for Antioxidants. *Today's chemist at work*. American Chemical Society. U.S.A. pp. 20-24.
- GIL, M. I.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; HESS-PIERCE, B.; HOLCROFT, D. M.; KADER, A. A. 2000. Antioxidant Activity in Pomegranate Juice and Its Relationship with Phenolic Composition Processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 4581-4589.
- GUAN, T. T.; WHITEMAN, M. 2005. Antioxidant Activities of Some Tropical Fruits. National University of Singapore. Free Radical Biology and Medicine. 6 p. Disponible en http://staff.science.nus.edu.sg/~scilooe/srp2002/sci_paper/Biochem/research_paper/Tan%20Tze%20Guan1.pdf. (Consultado el 30 de enero, 2005).
- JOSHIPURA, K. J.; ASCHERIO, A.; MANSON, J. E.; STAMPFER, M. J.; RIMM, E. B.; SPEIZER, F. E.; HENNEKENS, CH.; SPIEGELMAN, D.; WILLET, W. C. 1999. Fruit and vegetable intake in relation to risk of ischemic stroke. *Journal of the American Medical Association* 282: 1233-1239.
- JUNG, V.; OLSSON, E.; CASPERSEN, S.; ASP, H.; JENSÉN, P.; ALSANIUS, B.W. 2004. Response of young hydroponically grown tomato plants to phenolic acids. *Scientia Horticulturae* 100: 23-37.
- KALT, W.; KUSHAD, M. M. 2000. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Plants and Human Health: Introduction to the Colloquium. *HortScience* 35: 572.
- MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C.; DAVIES, M. J.; GOPINATHAN, V.; MILNER, A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its applications to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science* 84: 407-412.
- NESS, A. R.; POWELS, J. W. 1997. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: A review. *International Journal Epidemiology* 26: 1-13.
- PRIOR, R. L.; CAO, G.; MARTÍN, A.; SOFIC, E.; MCEWEN, J.; O'BRIEN, C.; LISCHNER, N.; EHLENFELDT, M.; KALT, W.; KREWER, G.; MAINLAND, C.M. 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity and variety of *Vaccinium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 2686-2693.
- PRIOR, R. L.; CAO, G. 2000. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: Diet and health implications. *Hortscience* 35: 588-591.
- RAMÍREZ, H.; PERALTA, M. M. R.; BENAVIDES M. A.; SÁNCHEZ, L. A.; ROBLEDO, T. V.; HERNÁNDEZ, D. J. 2005. Efectos de Prohexadiona-Ca en Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y su relación con giberelinas y citocininas. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 9: 283-290
- RODRIGUEZ, P. J. M.; MENDEZ, L. J. R.; TRUJILLO, Y. 2001. Radicales libres en la biomedicina y el estrés oxidativo. *Revista Cubana de Medicina Militar* 30: 36-44.
- SÁNCHEZ, V. A.; SERRA, M. L.; GARCÍA, S. P.; DORESTE, A. J. 2004. Dieta y cáncer. *Biocáncer* 1. Gran Canaria, España. 14 p.
- SAN MIGUEL, R.; GUTIÉRREZ, M.; LARQUÉ-SAAVEDRA, A. 2003. Salicylic acid increases the biomass accumulation of *Pinus patula*. *Southern Journal of Applied Forestry* 27: 52-54.
- STEINMETZ, K. A.; POTTER, J. D. 1996. Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. *Journal of the American Dietetic Association* 96: 1027-1039.
- TOSUN, I.; USTUN, N. S. 2003. An Investigation about antioxidant capacity of fruit nectars. *Pakistan Journal of Nutrition* 2: 167-169.
- WURR, D. C. E.; FELLOWS, J. R.; CRISP, P. 1982. Leaf and curd production in cauliflower varieties cold-treated before transplanting. *Journal of Agricultural Science* 99: 425-432.