

CAMBIOS PROVOCADOS POR LA RADIACION GAMMA EN MEMBRANAS MICROSOMALES DE HOJA DE RESERVA DE AJO.

Pérez, M. B. ¹, Aveldaño, M.I. ² y Croci, C.A. ¹

¹ Laboratorio de Radioisótopos, Universidad Nacional del Sur (UNS)

² Instituto de Investigaciones Bioquímicas, UNS-CONICET

Avenida Alem 1253, 8000-Bahía Blanca

e-mail: mperez@criba.edu.ar

Introducción

La región de influencia directa de la UNS se caracteriza por ser una fuerte productora de bulbos de ajo y cebolla, destinados tanto al comercio interno como al de exportación. Los volúmenes exportados de ajo representan el 25% de las exportaciones totales de hortalizas y verduras del país, siendo tradicionalmente Brasil el principal destino (1). Durante el almacenaje del ajo, una gran parte de los bulbos se pierde debido a factores físicos, fisiológicos y patológicos. Con el fin de reducir estas pérdidas se han aplicado diversas metodologías, tales como el almacenamiento a bajas temperaturas o en atmósfera controlada, pero los altos costos y bajos rendimientos hacen poco atractivos estos métodos. También existen productores que aplican, previo a la cosecha de los bulbos, sustancias químicas antibrotantes tales como la hidrazida maleica, a pesar de que por su toxicidad se hallan prohibidas en numerosos países. El uso de radiaciones ionizantes para inhibir el crecimiento del brote —proceso de radioinhibición— está demostrado ser un método útil para extender el período de comercialización de los bulbos (2). La aplicación práctica de este proceso, tanto en bulbos de ajo como en otros bulbos comestibles, ofrece distintos beneficios que hacen atractivo este método (3).

La irradiación de ajo para controlar la brotación está permitida en aproximadamente 15 países, incluyendo Argentina (4). A medida que la irradiación de alimentos se ha difundido, ha crecido el interés por detectar los alimentos que han sido irradiados. La identificación de productos irradiados es necesaria a fin de informar adecuadamente a los consumidores, controlar el comercio interno e internacional de alimentos irradiados y posibilitar el control del cumplimiento de los códigos de prácticas existentes (5). Sin embargo, debido a que los efectos producidos por irradiación son, a menudo, menores y similares a los cambios causados por otros modos de preservación de alimentos, existen dificultades para contar con indicadores concluyentes. Si bien son notables los avances realizados en el campo de los alimentos tratados con altas dosis, los mismos no son aptos para determinar si productos vegetales del tipo de bulbos, tubérculos y raíces frescos han sido tratados con bajas dosis para inhibir la brotación. Parte de la dificultad radica, además de las bajas dosis requeridas, en la presencia de gran contenido de agua en los tejidos correspondientes.

Los efectos de bajas dosis de radiación gamma sobre tejidos vegetales están más relacionados con cambios fisiológicos y bioquímicos que con cambios radiolíticos. Trabajos publicados por nuestro grupo de trabajo han determinado que la aplicación de radiación gamma en ajo induce modificaciones en: reguladores del crecimiento (6), peroxidasa (7), DNA, RNA, proteínas, hidratos de carbono solubles (8) y en membranas celulares (9). En la literatura existen numerosos antecedentes acerca de los efectos de altas dosis de radiación ionizante sobre las membranas biológicas (10) (11). Los efectos

observados incluyen: peroxidación lipídica, cambios en el contenido de lípidos, incrementos en la permeabilidad de membranas e inactivación de enzimas unidas a membranas. Sin embargo, es escasa la información disponible acerca del daño a membranas vegetales producido por bajas dosis de radiación gamma.

El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar los cambios que se producen en las propiedades de fase de los lípidos de membranas microsomaes de bulbos de ajo por efecto del proceso de radioinhibición, y correlacionar estos cambios con las probables modificaciones en el perfil lipídico de dichas membranas.

Materiales y métodos

Para realizar el presente trabajo se usaron bulbos de ajo c.v. Colorado cosechados en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires. Los bulbos de ajo fueron irradiados con rayos gamma provenientes de una fuente de ^{60}Co en las facilidades del Centro Atómico Ezeiza de la Comisión Nacional de Energía Atómica. Con fines de inhibir la brotación, se aplicó una dosis promedio de 60 Gy dentro de los 30-40 días post-cosecha. Las membranas microsomaes lisa y rugosa fueron aisladas por ultracentrifugación a partir del tejido de hoja de reserva irradiada y no irradiada. Los cambios de fase de los lípidos de las membranas fueron evaluados a lo largo de 270 días de almacenaje post-cosecha mediante la técnica de difracción de rayos X de ángulo ancho. Para ello, los pellets de membranas se colocaron en portamuestras de vidrio y los difractogramas se registraron a temperatura ambiente usando un equipo Phillips PW 1700, con ánodo de Cu y monocromador de grafito. Los lípidos fueron extraídos de las membranas microsomaes usando mezclas de cloroformo-metanol. Las distintas fracciones lipídicas fueron separadas por técnicas convencionales de cromatografía en capa fina. Los fosfolípidos (FL) y triglicéridos (TG) fueron cuantificados a través de la medición espectrofotométrica de fósforo y glicerol, respectivamente. Su composición en ácidos grasos fue estudiada por cromatografía en fase gaseosa, previa obtención de sus metil-ésteres. Los ácidos grasos fueron identificados en función de sus tiempos de retención y cuantificados por integración electrónica.

Resultados y Conclusiones

Los difractogramas presentaron picos a espaciados de Bragg de 4.15 Å y 3.75 Å, revelando la presencia de porciones de lípidos en fase gel (cristalina), los cuales provienen respectivamente de un empaquetamiento hexagonal y ortorrómbico de las cadenas hidrocarbonadas (12). El pico característico de la fase líquido-cristalina (4.6 Å) no fue observado en las membranas estudiadas. La irradiación indujo modificaciones en la intensidad de los picos de 4.15 Å y 3.75 Å de la membrana microsomal lisa, pero no afectó su comportamiento a lo largo del período estudiado. Como puede observarse en la Figura 1, durante los primeros 60 días post-cosecha, el pico a 4.15 Å presentó menor intensidad en las muestras irradiadas que en sus respectivos controles. Como resultado del tratamiento, a partir de ese momento fue observado un incremento en la intensidad de dicho pico. La intensidad del pico a 3.75 Å mostró un comportamiento similar al pico de 4.15 Å durante el almacenaje. Los datos obtenidos de la fracción microsomal rugosa fueron erráticos. En paralelo con estos cambios, la radiación indujo significativas modificaciones en los TG de la membrana microsomal lisa, tanto en el contenido relativo de los TG en relación con los FL (Figura 2) como en la composición porcentual de sus ácidos grasos.

Estos resultados indican que el tejido de la hoja de reserva de ajo es radiosensible en términos de las propiedades físicas y químicas de sus membranas microsomales. Desde el punto de vista práctico, estos resultados podrían ser la base para el desarrollo de técnicas tendientes a verificar, durante el almacenaje, si los bulbos de ajo han sido irradiados.

Referencias

1. Burba, J.L. (1997). Situación del cultivo de ajo en la Argentina. "50 temas sobre producción de ajo", Vol. 1, p. 11-15. INTA, EEA La Consulta, Mendoza, Argentina.
2. Croci, C.A. y Curzio, O.A. (1983). The influence of gamma-irradiation on the storage life of "red" variety garlic. *Journal of Food Processing and Preservation* 7: 179-183.
3. Curzio, O.A. y Croci, C.A. (1997). Conservación de bulbos de ajo por radioinhibición de la brotación. "50 temas sobre producción de ajo", Vol. 4, p. 42-48. INTA, EEA La Consulta, Mendoza, Argentina.
4. IAEA (1998). Clearance of item by country. Food and Environmental Protection Newsletter, Supplement 1, 1-17.
5. Mc Murray, C.H., Stewart, E.M., Gray, R. y Pearce, J. (1996). *Detection methods for irradiated foods - Current Status*. The Royal Society of Chemistry, UK.
6. Croci, C.A., Argüello, J.A. y Orioli, G.A. (1990). Effect of gamma rays on sprouting of seed cloves of garlic (*Allium sativum* L.): Levels of auxin-like substances and growth inhibitors. *Environmental and Experimental Botany* 30: 9-15.
7. Croci, C.A., Argüello, J.A. Curvetto, N.R. y Orioli, G.A. (1991). Changes in peroxidasa associated with radiation-induced sprout inhibition in garlic (*Allium sativum* L.). *International Journal of Radiation Biology* 59: 551-557.
8. Croci, C.A., Argüello, J.A. y Orioli, G.A. (1994). Biochemical changes in garlic (*Allium sativum* L.) during storage following γ -irradiation. *International Journal of Radiation Biology* 65: 263-266.
9. Pérez, M.B., Curzio, O.A., Aveldaño, M.I. y Croci, C.A. (1996). Cambios en la composición lipídica de membranas microsomales de bulbos de ajo durante el almacenaje. Efectos del proceso de radioinhibición. Actas XXI Congreso Argentino de Química, Bahía Blanca, Argentina.
10. Edwards, J.C., Chapman, D., Cramp, W.A. y Yatvin, M.B. (1984). The effects of ionizing radiation on biomembrane structure and function. *Prog. Biophys. Molec. Biol.* 43: 71-93.
11. Stark, G. (1991). The effect of ionizing radiation on lipid membranes. *Biochim. Biophys. Acta* 1071: 103-122.
12. McKersie, B.D. y Thompson, J.E. (1978). Phase behavior of chloroplast and microsomal membranes during leaf senescence. *Plant Physiology* 61: 639-643.

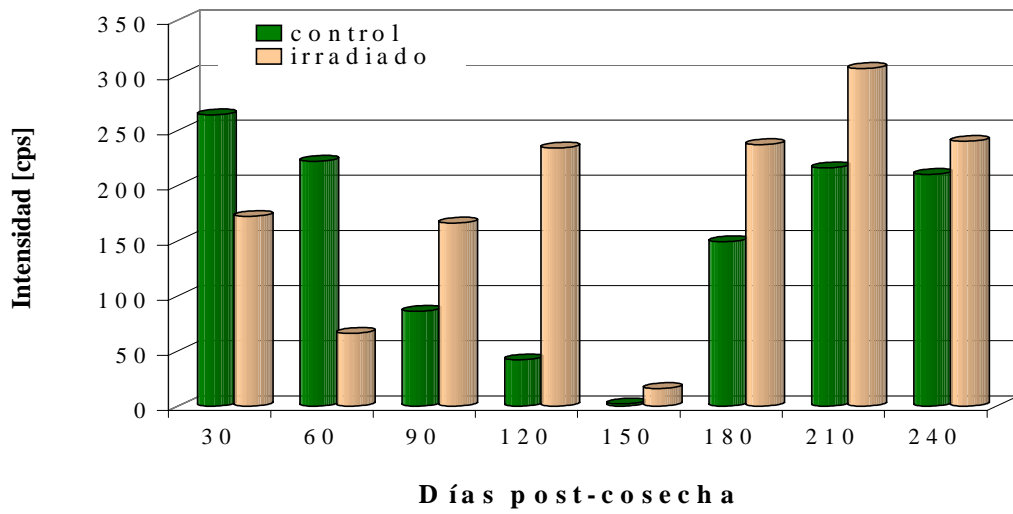


Figura 1. Comportamiento de la fase gel en membrana microsomal lisa de hoja de reserva, expresado a través de la intensidad del pico a 4.15 Å.

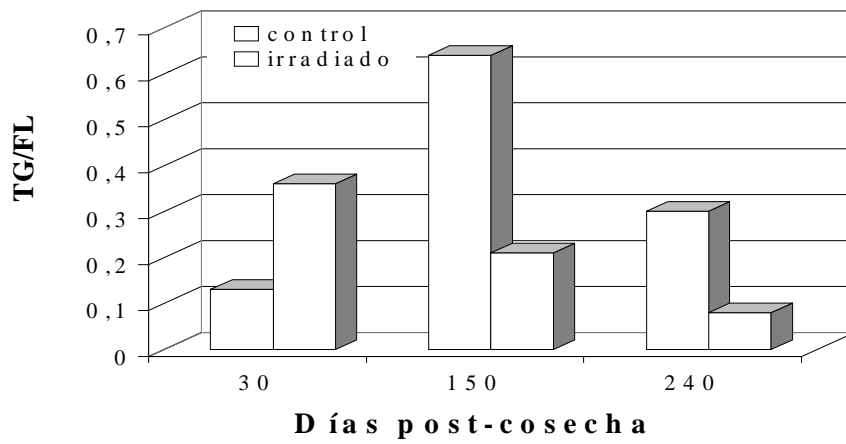


Figura 2. Contenido de TG ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$ de FL) en membrana microsomal lisa durante el almacenaje post-cosecha.