

## **RESULTADOS PRELIMINARES SOBRE LA CARACTERIZACIÓN DE PSEUDO-ORGÁNULOS EN TEJIDOS DE MANZANA AFECTADOS POR BITTER PIT**

Quiroga L, Blanco A, Monge E, Val J.

Estación Experimental de Aula Dei (CSIC); Avda. Montañana 1005; 50059 Zaragoza, España. [jval@eead.csic.es](mailto:jval@eead.csic.es)

El bitter pit es una fisiopatía que se declara por la muerte y deshidratación de células en zonas aisladas del mesocarpio alcanzando su cenit durante el proceso de conservación. El calcio juega un papel clave en el desarrollo de este desorden ya que los frutos con bajos niveles de este nutriente son más susceptibles a sufrir esta alteración fisiológica, aunque la manchas características tiene niveles de calcio más altos que la pulpa de manzanas sanas.

Desde la década de los sesenta, a penas se han realizado estudios histológicos acerca de la estructura de estos tejidos. Entre los escasos datos publicados, ciertos autores describen que en las zonas afectadas del cortex interno de las manzanas, además de tejidos dañados o necrosados que incluyen paredes celulares rotas, aparecen granos de almidón adheridos a estas membranas dañadas.

En este estudio se han apreciado mayor número de gránulos de almidón de los que aparecen en las células de manzanas sanas pero, además, se han observado acumulaciones de estructuras similares orgánulos celulares adheridos a las paredes de células afectadas.

Para identificar la naturaleza de estos pseudo-orgánulos (PO), se realizaron frotis con muestras de tejidos afectados por bitter pit homogeneizados con un tampón de fosfato pH 7. Para determinar la composición general de los PO se aplicaron numerosas técnicas histológicas de tinción y, entre ellas, la reacción más visible se consiguió con el tinte que revela la presencia de celulosa. En el proceso de separación y purificación de los PO constatamos que se trataba de unas estructuras resistentes a la abrasión química y mecánica. Además, su adhesión a los restos de pared celular era muy fuerte lo que dificultó el proceso de purificación. Tras la homogenización en mortero, se filtró el crudo a través de un filtro de nilón con una luz de 10  $\mu\text{m}$  para centrifugarlo posteriormente a 4000 rpm durante 30 minutos. En el precipitado se distinguían dos fases, una parda y otra más densa con tonalidades doradas. Se eliminó la capa superficial mediante un pincel y tras una nueva resuspensión, filtrado y centrifugación se obtuvo un depósito concentrado de PO's. Los PO responden fuertemente a la tinción PAS (Periodic Acid Schiff's) que revela la reacción histoquímica del ácido periódico que oxida las uniones entre carbonos formando aldehídos que, a su vez, reaccionan con el ácido sulfuroso fucsina dando color magenta. Esta reacción permite identificar la presencia de carbohidratos que parecen. Además, parece ser que contienen una alta concentración de proteína cuantificada por el método de Bradford. En la actualidad, se prosigue la investigación para profundizar en la naturaleza de estos orgánulos determinando composición fenólica y patrón de proteínas mediante electroforesis en gel de poliacrilamida.