



**ARTÍCULO ORIGINAL**

Efecto del jugo de *Brassica oleracea*. var. *italica* sobre la citotoxicidad del sorbato de potasio en *Allium cepa*

Effect of juice of *Brassica oleracea*. var. *italic* on the cytotoxicity of potassium sorbate in *Allium cepa*

José Saldaña-Jiménez<sup>1</sup>, Gina Zavaleta- Espejo<sup>1</sup>, Willian Blas-Cerdán<sup>1</sup>, Yesenia Cabrera-Alcalde<sup>1</sup> y Deyvi Meléndez-Rodríguez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo- Perú

**RESUMEN**

En el presente trabajo se evaluó el efecto del jugo de *Brassica oleracea* var. *Itálica* "brócoli", frente al daño citotóxico ocasionado por el sorbato de potasio en meristemas radiculares de *Allium cepa* "cebolla" var. Roja Arequipeña. Para lo cual se indujo el crecimiento de raicillas, estableciéndose nueve tratamientos, de los cuales T1 y T2 solamente en agua potable (14 y 28 horas de exposición respectivamente), T3 sorbato de potasio (1g/L), T4, T5 y T6 jugo de brócoli (0.25 %, 0.5% y 1% respectivamente) a 14 horas de exposición. T7, T8 y T9, al efecto sucesivo de jugo de brócoli y sorbato de potasio durante 14 horas de exposición a cada uno de ellos. Los resultados obtenidos evidenciaron una disminución significativa del índice mitótico (7.42) y un incremento del índice profásico (74.12) en T3; probablemente debido al efecto oxidativo del sorbato de potasio. A la concentración de 1% del jugo de brócoli, se observó un mayor efecto protector, puesto de manifiesto a través de la recuperación en los valores del índice mitótico y de fases con respecto a T1 y T2, lo cual estaría ocurriendo gracias a la acción de los glucosinolatos como el sulforafano. Por otro lado, el análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los diferentes tratamientos, lo cual fue confirmado mediante la prueba de comparación múltiple de promedios.

**PALABRAS CLAVES:** *Brassica oleracea* var. *Itálica*, sorbato de potasio, citotoxicidad, glucosinolatos, *Allium cepa*.

**ABSTRACT**

In this study we evaluated the effect of *Brassica oleracea* var. *Italic* "broccoli" juice of against cytotoxic damage caused by potassium sorbate in root meristems of *Allium cepa* "onion" var. Red Arequipeña. For which was induced the growth of rootlets into nine treatments, of which only T1 and T2 in drinkable water (14 and 28 hours exposure respectively), potassium sorbate T3 (1g / L), T4, T5 and T6 juice broccoli (0.25 %, 0.5% and 1 %, respectively) to 14 hours of exposure. T7, T8 and T9, to successive effect of broccoli juice and potassium sorbate for 14 hour exposure to each of them. The results showed a significant decrease in the mitotic index (7.42) and increased prophase index (74.12) at T3, probably due to oxidative effect of potassium sorbate. A concentration of 1% of broccoli juice, there was a greater protective effect, as evidenced by the recovery in the mitotic index values and phase with respect to T1 and T2, which would occur through the action of glucosinolates as sulfuraphane. In addition, the analysis of variance evidenced significant differences between the different treatments, which was confirmed by multiple comparison test averages.

**KEY WORDS:** *Brassica oleracea* var. *Italic*, potassium sorbate, cytotoxicity, glucosinolates, *Allium cepa*.

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha manifestado una seria preocupación en cuanto a los riesgos y peligros potenciales de la contaminación microbiológica en la industria alimentaria, riesgos que puedan afectar la salud del consumidor o la estabilidad del producto. Gracias al desarrollo de la ciencia y la tecnología de la alimentación, se han descubierto sustancias que pueden cumplir funciones beneficiosas en los alimentos, denominadas aditivos alimentarios; tales como los conservantes.<sup>1</sup>

Los cuales actúan sobre los microorganismos, ya sea destruyendo su membrana, bloqueando su actividad enzimática o afectando su estructura genética. Dependiendo de la dosis de conservante empleado, su acción puede ser bacteriostática, fungistática, bactericida o fungicida.

<sup>2,3</sup> Un aditivo conservante, es el sorbato de potasio (E 202), con fórmula molecular  $C_6H_7O_2K$  y nombre químico (E,E)-hexa-2,4-dienoato de potasio; empleado en una concentración aproximada de 0.3 % para inhibir el crecimiento de bacterias y hongos en los alimentos, con un pH hasta de 6.5. Se emplea en la conservación de quesos, encurtidos, pan, vino, jugos de frutas, aderezos para ensaladas, emulsiones cárnicas y en la industria farmacéutica en la fabricación de colirios. No es tóxico para el hombre ya que este lo metaboliza como cualquier otro ácido graso. Tanto el sorbato de potasio como el ácido sórbico se encuentran bajo estatuto GRAS (Generalmente Reconocidos Como Seguro, por sus siglas en inglés).<sup>4,5,6</sup>

Debido a sus notables propiedades químicas y físicas, no influye en el sabor ni olor de los productos, por lo que ha sido adoptado en muchos países como el conservante ideal para varios productos alimenticios. Se ha demostrado que detiene el crecimiento de *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Clostridium botulinum* y otros (excepto bacterias lácticas), al inhibir a las deshidrogenasas involucradas en la oxidación de ácidos grasos.<sup>7</sup> Otro mecanismo de acción está asociado a los dobles enlaces que posee, los cuales interfieren con la actividad catalítica de las enzimas responsables del crecimiento microbiano. Sin embargo, dado su carácter artificial, reacciona químicamente con otros componentes como los nitritos, generando compuestos carcinogénicos para el ser humano.<sup>8,9</sup> Estudios realizados empleando sorbato de potasio evidenciaron la presencia de efectos mutagénicos y genotóxicos en células de la médula ósea de ratón<sup>10</sup>, células ováricas de hámsters chinos<sup>11</sup> y en células embrionarias de Syrian hámster.<sup>12</sup> También fue evaluado el potencial genotóxico de esta sal en linfocitos humanos, los resultados revelaron un incremento en la frecuencia de aberraciones y rupturas cromosómicas, así como una disminución del índice mitótico.<sup>13</sup> El sorbato de potasio almacenado durante cierto tiempo y aplicado luego a cultivos de células V79 de hámster chino y células somáticas de *Drosophila melanogaster*, ocasionó también efectos citotóxicos y

genotóxicos. <sup>14</sup> Similares resultados se obtuvieron utilizando este compuesto, a concentraciones de 1g/L en células meristemáticas de *Allium cepa*.<sup>15,16</sup>

Dentro de la amplia variedad de vegetales utilizados en la prevención de ciertas patologías como la diabetes y osteoporosis; y ciertos tipos de cáncer en órganos tales como: colon, recto, pulmón, próstata y mama, se encuentra *Brassica oleracea. var. Itálica* “brócoli”<sup>17</sup>; la cual es una planta herbácea anual con una altura entre 60 a 90 cm.; perteneciente a la familia de las crucíferas, conformada por flores dispuestas en un corimbo principal. Se diferencia de otras especies de su misma familia por presentar pedúnculos florales compactos, que conforman una cabeza o pella, que es la parte comestible de la planta, constituida por una masa densa de yemas florales, pudiendo alcanzar un diámetro de hasta 20 a 35 cm.; dependiendo del cultivar sus tonalidades varían desde verde intenso hasta púrpuras. Su centro de origen se ubica en Asia menor, probablemente desde Grecia hasta Siria, siendo introducida en Inglaterra en los años de 1700 y de allí llevada a Estados Unidos, México, Guatemala, Perú, Ecuador y Chile. <sup>18,19,20</sup> En las últimas décadas el consumo de este vegetal ha experimentado un fuerte aumento de producción y venta en los países industrializados, esto debido a su alto contenido de alcaloides, flavonoides, carotenoides, fenoles, vitaminas (B<sub>1</sub>, E, A y C), minerales (calcio, zinc, hierro, yodo y magnesio), pero sobre todo de glucosinolatos, los cuales contienen una unidad de β-tioglucoído (isotiocianato), una oxima sulfonada y una cadena lateral variable, derivada de un aminoácido. <sup>21,22</sup> Estos metabolitos secundarios, sintetizados por la planta como mecanismo de defensa, se encuentran en el líquido intersticial celular. Cuando se rompe este tejido se ponen en contacto con las tioglicosidasas glucohidrolasas, llamadas también mirosinasas (EC 3.2.3.1), que se encuentran en los idioblastos. Estas enzimas hidrolizan los glucosinolatos generando varios productos entre ellos, el sulforafano, un isotiocianato que estimula al organismo a producir enzimas capaces de combatir el cáncer.<sup>23,24,25</sup> En un estudio realizado en Singapur acerca del metabolismo carcinogénico en personas fumadoras, se encontró que el consumo de crucíferas como el brócoli proporciona un efecto protector contra el cáncer de pulmón.<sup>26</sup> En otros estudios se encontró que una dieta de brócoli suplementada con azufre, es capaz de inhibir los procesos de división celular en células malignas de hepatocarcinoma humano (HepG2) y células de cáncer colorrectal (CT26) de ratón. <sup>27</sup>

El ciclo de división celular está regulado por una serie de moléculas, entre las cuales se encuentran las ciclinas y quinasas dependientes de las ciclinas entre otras. Además, se sabe que este proceso no siempre termina en la división celular y que su regulación exige una transcripción y síntesis de proteínas específicas; que determinan el inicio del ciclo, la replicación del ADN y el paso de G2 hacia la mitosis. <sup>28,29,30,31</sup> La presencia de sustancias

químicas citotóxicas y genotóxicas pueden afectar su normal desarrollo e inducir la formación de figuras mitóticas anormales y aún más, ocasionar daños a nivel cromosómico, que pueden ser detectadas a través de diferentes ensayos.<sup>32,33</sup>

La aplicación del test *Allium* en bulbos de cebolla, permite evaluar el riesgo citotóxico y genotóxico de una sustancia o una mezcla de sustancias, así como también de otras que podrían poseer efectos protectores frente a daños oxidativos. Esto, debido al crecimiento rápido de sus raíces y las características de sus células meristemáticas constituyendo un sistema in vitro ideal para estudiar los mecanismos regulatorios que puedan afectar el ciclo celular.<sup>34,35,36</sup> Debido a los antecedentes mencionados anteriormente, acerca de la capacidad del aditivo sorbato de potasio de ocasionar daño a nivel del patrimonio genético y de la capacidad de los metabolitos secundarios presentes en el brócoli de proteger frente al daño oxidativo. En el presente trabajo se determinó el efecto de tres concentraciones del jugo de *Brassica oleracea* var. *Itálica* sobre la citotoxicidad del sorbato de potasio en meristemas radiculares de *Allium cepa*.<sup>37,38,39</sup>

## MATERIALES Y MÉTODOS

### MATERIAL BIOLÓGICO

**Bulbos de *Allium cepa* L. var. *Roja Arequipeña* “cebolla”**, con un peso aproximado de 80 - 100 g. cada uno, con forma de perilla y excelente estado de conservación fitosanitaria. Se obtuvieron 20 Kg. compradas en el mercado “Central” del distrito de Trujillo.

**Cabezas o pellas de *Brassica oleracea*. var. *Itálica* “brócoli”**. Se obtuvieron 5 Kg. de cabezas o pellas de brócoli, maduras y de color verde, tamaño uniforme y en condiciones fitosanitarias adecuadas, los cuales fueron comprados en el mercado “Central” del distrito de Trujillo.

### MÉTODOS Y TÉCNICAS

**Obtención del jugo de *Brassica oleracea* var. *Itálica***. Las pellas de brócoli, previamente limpiadas y lavadas con agua potable, fueron cortadas en trozo y sometidos a la acción de un licuo extractor. Obteniéndose un jugo, que luego fue filtrado tres veces mediante una gasa fina y posteriormente llevado a concentraciones del 0.25%, 0.50 % y 1%.

#### **Preparación de la solución de sorbato de potasio**

Se pesó 1g. de sorbato de potasio grado alimentario, que luego fue colocado en una probeta, aforándose hasta 1 litro con agua potable previamente declorinada.

#### **Enraizamiento de bulbos de *Allium cepa***

Se utilizaron 162 bulbos de *A. cepa* “cebolla” a los cuales se les quitaron las catáfilas y raicillas secas. En la parte ecuatorial de los bulbos se introdujeron 3 a 4 palitos mondadientes

distribuidos equidistantemente para sostener el bulbo en la boca del vaso de tecnopor de 250 mL, el cual previamente se llenó con 200 mL de agua potable aproximadamente. Esto permitió que el agua potable se ponga en contacto con el disco germinativo para permitir la emisión de nuevas raicillas, necesarias para la experiencia.

### **Acondicionamiento del material biológico**

Las cebollas se mantuvieron a temperatura ambiente en un sistema de soporte, diseñado especialmente y hecho de triplay; se utilizó seis motores de pecera para proporcionar aireación constante a razón de 10 mL/min, la renovación del agua potable contenida en los vasos fue diaria; luego se seleccionaron aquellos bulbos que contenían en promedio más de 10 raicillas con una longitud aproximada de 2 a 3cm.

### **Diseño experimental**

Se realizó un diseño completamente al azar, con tres repeticiones para cada uno de los nueve tratamientos. Se seleccionaron bulbos de cebolla (3 para cada tratamiento) teniendo en cuenta que tengan enraizamiento uniforme y un buen número de raicillas.

(T1: Control Negativo, solamente agua potable 14 horas de exposición, T2: Control Negativo, solamente agua potable 28 horas de exposición, T3: Control Positivo, 1 g/L Sorbato de Potasio 14 horas de exposición, T4: 0.25% de jugo de *Brassica oleracea* var. Itálica 14 horas de exposición, T5: 0.5% de jugo de *Brassica oleracea* var. Itálica 14 horas de exposición, T6: 1% de jugo de *Brassica oleracea* var. Itálica 14 horas de exposición, T7: 0.25% de jugo de *Brassica oleracea* var. Itálica y luego 1 g/L Sorbato de Potasio a 14 horas de exposición para cada uno de ellos, T8: 0.5% de jugo de *Brassica oleracea* var. Itálica y luego 1 g/L Sorbato de Potasio a 14 horas de exposición, para cada uno de ellos, T9: 1% de jugo de *Brassica oleracea* var. Itálica y luego 1 g/L Sorbato de Potasio a 14 horas de exposición, para cada uno de ellos).

### **Obtención de preparados citológicos**

Después de haber finalizado cada uno de los tratamientos, las raicillas de los bulbos de cebolla fueron disectadas y fijadas en Carnoy's. Luego se lavaron tres veces con agua destilada, para retirar de esta manera los restos del fijador, seguidamente se secaron con papel toalla para eliminar los restos de agua en la superficie. Posteriormente se colocaron en una luna reloj, previamente rotulada según el tratamiento, y se procedió a colorear con 9 gotas de Orceina acética al 2% y 1 gota de HCl 1N por 30 minutos mediante el método de Tjio y Levan.<sup>38</sup> Pasado el tiempo de coloración, los ápices de las raicillas fueron seccionados y colocados sobre las láminas portaobjetos, se agregó una gota de gelatina fenicada, luego se colocó sobre esta una laminilla cubreobjetos, y finalmente se procedió a utilizar la técnica de "squash" o del aplastamiento.

### **Análisis citológico para la determinación de la citotoxicidad**

Los preparados citológicos se observaron con un microscopio compuesto Olympus CX 21, con el objetivo de 40x. Posteriormente, se procedió a contar un total de 2000 células meristemáticas por cada uno de los diferentes tratamientos ensayados, lo cual se realizó por triplicado, utilizando la técnica de barrido. Para la evaluación de la citotoxicidad se estimaron los valores del índice mitótico y de fases. Los resultados obtenidos fueron expresados en porcentajes.

### **Análisis estadístico**

Los datos obtenidos fueron organizados en tablas, gráficos y figuras para realizar la comparación de los diferentes tratamientos ensayados mediante el análisis de varianza y la prueba de contraste de medias de Tukey con una probabilidad de error de 0,05.<sup>40</sup>; utilizando el programa Statgraphics Centurion versión XV para Windows. Versión de prueba libre.<sup>41</sup>

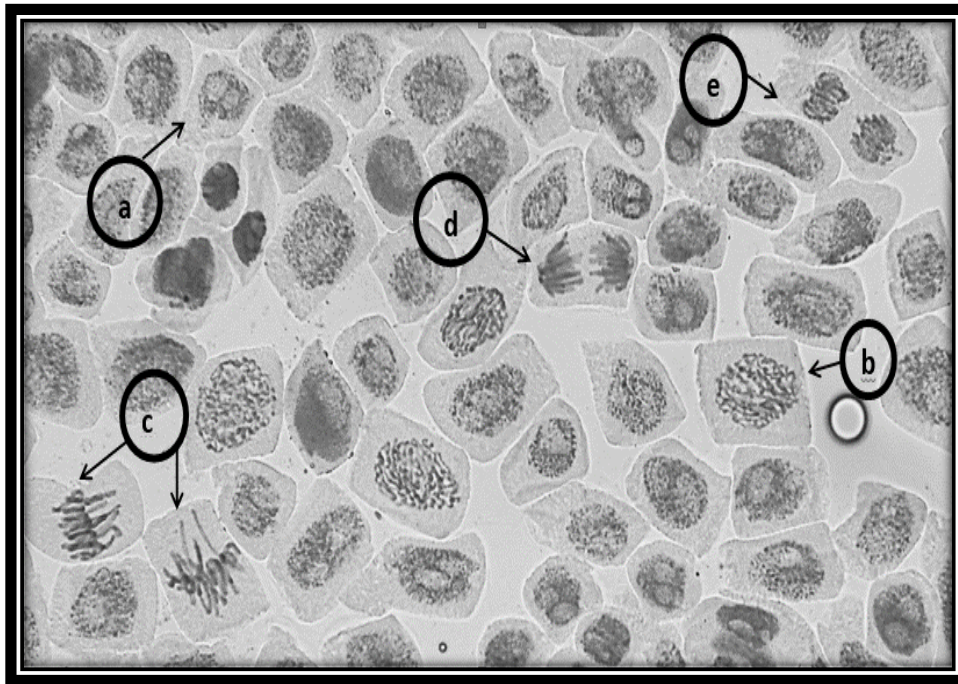
## **RESULTADOS**

En la tabla 1, se observan los promedios de los porcentajes del índice mitótico y de fases, para cada uno de los tratamientos ensayados. La figura 1, muestra el gráfico de barras del índice mitótico, en el cual se observa una disminución significativa en el tratamiento con Sorbato de Potasio 1g/L (control negativo).

En la figura 6, se muestran las diferentes fases del ciclo celular en el tratamiento control positivo a las 14 horas de exposición, en células meristemáticas de *Allium cep.* var. Roja Arequipeña.

**Tabla 1.** Porcentajes  $\pm$  Desviación Estándar de los valores obtenidos de los índices mitóticos y de fases evaluados en meristemas radiculares de *Allium cepa* Var. Roja Arequipeña expuestos a concentraciones de Sorbato de potasio 1g/L, jugo de *Brassica oleracea* Var. *Itálica* (0.25%, 0.5, 1% ) y al efecto sucesivo de ambos.

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>ÍNDICE MITÓTICO</b>	<b>ÍNDICE PROFÁSICO</b>	<b>ÍNDICE METAFÁSICO</b>	<b>ÍNDICE ANAFÁSICO</b>	<b>ÍNDICE TELOFÁSICO</b>
T1	12.97 $\pm$ 0.08	48.33 $\pm$ 0.48	14.40 $\pm$ 0.25	9.25 $\pm$ 0.33	28.02 $\pm$ 0.14
T2	13.62 $\pm$ 0.45	48.59 $\pm$ 0.29	14.33 $\pm$ 0.62	9.30 $\pm$ 0.40	27.78 $\pm$ 0.55
T3	7.42 $\pm$ 0.33	74.12 $\pm$ 2.50	9.01 $\pm$ 0.59	6.98 $\pm$ 0.68	9.90 $\pm$ 1.28
T4	12.44 $\pm$ 0.22	53.29 $\pm$ 1.26	14.59 $\pm$ 0.38	6.29 $\pm$ 0.55	25.83 $\pm$ 0.99
T5	11.50 $\pm$ 0.18	56.08 $\pm$ 0.29	14.49 $\pm$ 0.29	5.80 $\pm$ 0.34	23.62 $\pm$ 0.36
T6	10.32 $\pm$ 0.15	66.57 $\pm$ 1.23	10.82 $\pm$ 0.42	4.19 $\pm$ 0.68	18.42 $\pm$ 0.37
T7	9.93 $\pm$ 0.20	66.78 $\pm$ 0.35	10.40 $\pm$ 0.34	7.71 $\pm$ 0.47	15.10 $\pm$ 0.20
T8	10.95 $\pm$ 0.18	61.79 $\pm$ 0.20	13.70 $\pm$ 0.25	7.77 $\pm$ 0.55	16.74 $\pm$ 0.59
T9	12.07 $\pm$ 0.22	56.22 $\pm$ 0.66	13.82 $\pm$ 0.37	8.71 $\pm$ 0.52	21.25 $\pm$ 1.33



**Fig 1.** Fases del ciclo celular en células meristemáticas de *Allium cepa* Var. Roja Arequipeña. En el tratamiento control positivo a las 14 horas, observadas a 100X. a) Interfase b) Profase C) Metafase d) Anafase e) Telofase.

## DISCUSIÓN

Al evaluar los resultados obtenidos, se encontró que los valores del índice mitótico (IM) en los diferentes tratamientos disminuyen en relación al control negativo (Tabla 1), ambos solamente con agua potable. En el tratamiento expuesto a sorbato de potasio 1g/L (control positivo), el IM alcanzó su mínimo valor: 7.42 (Tabla 1). Lo cual se debería probablemente a que este compuesto a la concentración y tiempo de exposición empleado, estaría actuando a nivel del segundo punto de control en el ciclo celular (G2) interfiriendo en la conformación del complejo Ciclina B – CdK1 (FPM : Factor Promotor de la Mitosis), que permite el paso de las células hacia la mitosis; disminuyendo consecuentemente el porcentaje de células en división.<sup>42,43</sup> Similares resultados se obtuvieron empleando sorbato de potasio en linfocitos humanos.<sup>13</sup> En cultivos de células V79 de hámster chino y células somáticas de *Drosophila melanogaster*.<sup>14</sup> Así como en otros trabajos realizados en meristemos radiculares de *Allium cepa*.<sup>15,16</sup> En relación al IM de los tratamientos T4, T5 y T6 (Tabla 1), en los cuales, solamente actuaron las diferentes concentraciones del jugo de *Brassica oleracea* var. *Itálica* (brócoli), se obtuvieron valores de 12.44 al 0.25%, 11.50 al 0.5% y 10.32% al 1%; lo cual muestra una ligera disminución con respecto a T1 y T2. Esto se debería, a que los principios activos presentes en el jugo de brócoli tales como los alcaloides y flavonoides se estarían enlazando con complejos

enzimáticos necesarios para la progresión del ciclo celular.<sup>17,33,43,44</sup> Evitando así, que las células transiten normalmente desde la interfase hacia la mitosis.

Sin embargo al evaluar el efecto sucesivo, en primer lugar del jugo de brócoli y luego del sorbato de potasio a 14 horas de exposición para ambos, se apreció una recuperación en los valores de los IM 9.93 al 0.25%, 10.95 al 0.5%, 12.07 al 1% (Tabla 1), con respecto al tratamiento sólo con sorbato de potasio. Lo cual probablemente evidenciaría el efecto protector de los glucosinolatos como el sulforafano presente en el jugo de brócoli; el cual no actúa como un antioxidante común sobre los radicales libres capaces de causar daño a nivel celular y posibles mutaciones, si no que más bien estimula la producción de enzimas detoxificadoras responsables de neutralizar gran cantidad de sustancias oxidantes.<sup>23,25,27</sup> El análisis de varianza evidenció la existencia de diferencias significativas, a su vez la prueba Tukey estableció la conformación de 8 grupos estadísticamente homogéneos en función a su efecto. En cuanto al índice profásico (IP) (Tabla 1), se observó un incremento del mismo, alcanzado su valor más alto (74.12) en el tratamiento con sorbato de potasio (T3). Esto se debería probablemente a que dicha sustancia al inactivar la formación del FPM, traería como consecuencia que los procesos de condensación del material genético y de polimerización de microtúbulos para la formación del huso se vean afectados por lo que las células no transitarían normalmente desde profase hacia metafase.<sup>45,46</sup> En los tratamientos expuestos solamente al jugo de brócoli, se obtuvo valores en el IP de 53.29 a 0.25%, 56.08 a 0.5%, 66.57 a 1%. (Tabla 1 ). Lo que evidencia un ligero incremento con respecto a T1 y T2, debido posiblemente a la acción oxidativa de alcaloides y flavonoides presentes en el jugo. Así lo reporta también, la evaluación realizada en extractos acuosos de *Cyperus rotundus* “coquito”.<sup>47</sup> y *Minthostachys mollis* “muña”, en meristemos radiculares de *A. cepa*.<sup>43</sup> En los tratamientos con efecto sucesivo de jugo de brócoli y luego sorbato de potasio, se notó una disminución del IP, hasta alcanzar valores de 56.22 al 1% (T9). Lo cual muestra una probable tendencia a la normalización de estos valores con respecto a los controles negativos. El análisis de varianza evidenció la existencia de diferencias significativas, a su vez la prueba de Tukey estableció la conformación de 5 grupos estadísticamente homogéneos en función a su efecto. La disminución del índice metafásico (Imet), (Tabla 1) hasta alcanzar valores de 9.01 en el control positivo con respecto al resto de tratamientos, esto se debería a que el sorbato de potasio disminuye la capacidad de formación del huso mitótico al afectar la conformación del complejo Ciclina B - Cdk1. Ello desencadenaría también una serie de procesos moleculares que determinarían un cambio súbito en la funcionalidad de los cinetocoros, dejando de inducir la polimerización de microtúbulos que se elaboran perpendicularmente al eje mayor del cromosoma y se anclan por una de sus



extremidades en el cinetocoro, logrando solo pasar a metafase un número menor de células.<sup>48,49</sup> Al evaluar el efecto sucesivo de ambos, se apreció una significativa normalización en los valores del Imet, (13.82) en T9 (jugo de brócoli al 1% y luego sorbato de potasio), con respecto al tratamiento T3. Lo que pone de manifiesto nuevamente el efecto protector antioxidante de los glucosinolatos como el sulforafano.<sup>24,25</sup> El análisis de varianza evidenció la existencia de diferencias significativas, a su vez la prueba Tukey estableció la conformación de 3 grupos estadísticamente homogéneos en función a su efecto. En cuanto al índice anafásico (IA), se observó que los valores también disminuyen en los diferentes tratamientos con respecto a T1 T2 (Tabla 1). Lo cual probablemente estaría ocurriendo debido a que, los alcaloides y compuestos fenólicos presentes en el jugo de brócoli, así como también el efecto oxidativo del sorbato de potasio estarían afectando la conformación del complejo promotor de la anafase (APC); el cual se encarga de “revisar” que todos los cromosomas se hayan unido al huso mitótico. Si detecta que uno de los cinetocoros no se encuentra unido, envía una señal negativa al sistema de control bloqueando la activación de proteínas implicadas en la separación de las cromátidas hermanas, específicamente inactiva al conjunto APC-cdc20, lo que inhibe la liberación de la separasa, impidiendo que las cromátidas hermanas se separen hasta que la señal desaparezca. Esto traería como consecuencia que algunas células no desarrollen normalmente el proceso anafásico.<sup>45, 47,15,50</sup> Sin embargo, el efecto sucesivo de ambos (T7, T8 y T9), se nota una recuperación en los valores del IA; debido probablemente a la acción antioxidante de los glucosinolatos.<sup>25</sup> El análisis de varianza evidenció la existencia de diferencias significativas, a su vez la prueba Tukey estableció la conformación de 5 grupos estadísticamente homogéneos en función a su efecto. El Índice Telofásico (IT), alcanzo su mínimo valor 9.90 en el tratamiento con sorbato de potasio (Tabla 1). No obstante en los tratamientos donde se evaluó el efecto sucesivo de ambos, se observó una recuperación de estos valores. Lo cual pondría una vez más de manifiesto, el efecto protector antioxidante de los glucosinolatos contenidos en el jugo de brócoli. El análisis de varianza evidenció la existencia de diferencias significativas, a su vez la prueba Tukey estableció la conformación de 6 grupos estadísticamente homogéneos en función a su efecto.<sup>33,16,44</sup>

## CONCLUSIONES

El sorbato de potasio a la concentración de 1g/L, durante 14 horas de exposición, ocasiona una disminución en los valores de los índices mitóticos, metafásico, anafásico, telofásico y un

incremento en el índice profásico, en meristemos radiculares de *Allium cepa* var. Roja Arequipeña.

El jugo de *Brassica oleracea* var. Itálica, a las concentraciones de 0.25%, 0,5% y 1% y tiempo de exposición de 14 horas, evidencia un efecto protector frente al daño citotóxico ocasionado por el sorbato de potasio 1g/L. en meristemos radiculares de *Allium cepa* var. Roja Arequipeña. La concentración de 1 % de jugo de *Brassica oleracea* var. Itálica, muestra el mayor efecto protector frente al daño citotóxico ocasionado por el sorbato de potasio 1g/L, en meristemos radiculares de *Allium cepa* var. Roja Arequipeña.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Garcia, M.; Quintero, R.; López – Munguia, A. Biotecnología Alimentaria. Editorial Limusa. 2da edición. México; 1999.
2. Noboa, M. Evaluación de tortillas de papa refrigerada, bajo el efecto de Sorbato de Potasio como conservante y su influencia en la vida útil. Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador; 2005.
3. Heydaryinia, A.; Veissi, M.; Sadadi, A. A comparative study of the effects of the two preservatives, sodium benzoate and potassium sorbate on *Aspergillus niger* and *Penicillium notatum*. Journal Microbiology 2011; 4(4): 301-307.
4. Carrandi, L. Efecto de conservantes en la estabilidad de jugo de tuna pasteurizado. Memoria para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad de Chile, Chile; 1995.
5. Castro, M.; Cayré, M.; Garro, O.; Gerschenson, L.; Campos, C. Efecto de la interacción Tween® 20 – sorbato de potasio en la estabilidad microbológica de emulsiones alimenticias. Reunión de comunicaciones científicas y tecnológicas. Universidad Nacional del Nordeste, Argentina; 2001.
6. Herrero, R. . Generalidades de los conservantes en las formulaciones oftálmicas. Sociedad Española de Oftalmología 2007; 82: 531- 532.
7. Valle, P.; Lucas, B. Toxicología de Alimentos. Revista del Instituto Nacional de Salud Pública 2000; 10 (4): 10-12.
8. Gerschenson, L.; Varela, O.; Binstock, G. Food Research Internacional. Centro de Investigaciones Toxicológicas (Ceitox) de Citefa/Conicet. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires, Argentina; 2007.
9. Olaf, C.; Murray, R.; Polenta, G.; Lucangeli, C. Uso de sorbato de potasio y de metilparabeno para mejorar la conservación de maíz dulce. Revista de producción vegetal 2002; 98 (2). 127-138.
10. Jung, R.; Cojocel, C.; Müller, W.; Böttger, D.; Lück, E. Evaluation of the genotoxic potential of sorbic acid and potassium sorbato. Revista Food Chemical Toxicology 1992; 30(1): 1-7.
11. Münzner, R.; Guigas, C.; Renner, H. Re-examination of potassium sorbate and sodium sorbate for possible genotoxic potential. Revista Food Chemical Toxicology 1990; 28(6): 397-401.
12. Schiffmann, D.; Schlatter, J. Genotoxicity and cell transformation studies with sorbates in Syrian hamster embryo fibroblasts. Revista Food Chemical Toxicology 1992; 30(8): 669-672.
13. Mamur, S.; Yüzbaşıoğlu, D.; Unal, F.; Yilmaz, S. Does potassium sorbate induce genotoxic or mutagenic effects in lymphocytes. Toxicology in vitro 2010; 24(3):790-4.

14. Schlatter, J.; Würigler, F.; Kränzlin, R.; Maier, P.; Holliger, E.; Graf, U. The potential genotoxicity of sorbates: effects on cell cycle in vitro in V79 cells and somatic mutations in *Drosophila*. *Revista Food Chemical Toxicology* 1992; 30(10):843-851.
15. Quispe, J. Efecto del sorbato de potasio a diferentes concentraciones y tiempos de exposición sobre el ciclo celular y el material genético en meristemas radiculares de *Allium cepa*. Tesis para optar el título de Biólogo. Universidad Nacional de Trujillo; 2009.
16. Araujo, J. Efecto protector del extracto etanólico de *Annona muricata* sobre la citotoxicidad y genotoxicidad del sorbato de potasio en meristemas radiculares de *Allium cepa*. Tesis para optar el título de Biólogo. Universidad Nacional de Trujillo; 2012.
17. Jaramillo, N.; Cipriano, A. El cultivo de las crucíferas MANUAL TECNICO 20 Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – CORPOICA. Centro de Investigación La Selva. Río negro. Antioquia, Colombia; 2006.
18. Izco, J.; Barreno, E.; Brugués, M.; Costa, M.; Devesa, J.; Fernández, F.; Gallardo, T.; Llimona, X.; Prada, S.; Valdés, B. Botánica. Editorial Mc Graw- Hill – Interamericana. 2da edición. España; 2004.
19. Zorrilla, A. Evaluación de siete cultivares de *Brassica oleracea* L. var. Itálica plenck “brócoli” en Huaral. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, Lima-Perú; 2011.
20. Mostacero, J.; Castillo, F.; Mejía, F.; Charcape, J.; Ramírez, R. Plantas Medicinales del Perú. Asamblea Nacional de Rectores. Perú; 2011.
21. Mithen, R.; Dekker, M.; Verkerk, R.; Rabot, S.; Johnson, I. The nutritional significance, biosynthesis and bioavailability of glucosinolates in human food. *Journal of the food and science agriculture* 2000; 80 (7): 967–984.
22. Juge, N.; Mithen, R.; Traka, M. Molecular basis for chemoprevention by sulforaphane: a comprehensive review. *Cellular and Molecular Life Science* 2007; 64(9):1105-1127.
23. Matusheski, N.; Swarup, R.; Juvik, J.; Mithen, R.; Bennett, M.; Jeffery, E. Epithiospecifier protein from *Brassica oleracea* L. var. broccoli Broccoli. Inhibits Formation of the Anticancer Agent Sulforaphane. *Journal of agriculture and food chemistry* 2006; 54 (6): 2069–2076.
24. Bones, A.; Rossiter, J. The enzymic and chemically induced decomposition of glucosinolates. *Phytochemistry* 2006; 67: 1053-1067.
25. Adarsh, B.; Geetanjali, R.; Tarunpreet, S.; Thind, S. Bio-protective effects of glucosinolates – A review. *Food and Science and Technology* 42: 1561–1572; 2009.
26. Hecht, S.; Steven, G.; Carmella, K.; Siew-Hong, L.; Kazuko, A.; Mimi, C. Effects of cruciferous vegetable consumption on urinary metabolites of the tobacco-specific lung carcinogen 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone in Singapore chinese. *Cancer epidemiology biomarkers and prevention* 2004; 13(6):997-1004.
27. Rakesh, M.; Kestwal, J.; Ching, L.; Dipali, B.; Been, H. Glucosinolates fortification of cruciferous sprouts by sulphur supplementation during cultivation to enhance anti-cancer activity. *Food Chemistry* 2011; 126: 1164–1171 2010.
28. Lodish, H.; Berk, A.; Matsudaira, P.; Zipursky, L.; Baltimore, D.; Darnell, J. *Biología Celular y Molecular*. Editorial Médica Panamericana. 4ª edición. Madrid- España; 2002.
29. Paniagua, N.; Sesma, P.; Alvarez – Uria, M.; Fraile, B.; Anadón, R.; Sáez, F. *Citología e Histología Vegetal y Animal*. Editorial Mc. Graw – Hill Interamericana. 3ª edición. Madrid- España; 2002.
30. Jiménez, L.; Merchant, H. *Biología Celular y Molecular*. Editorial Pearson. México; 2003.

31. Karp, G. Biología Celular y Molecular. Editorial Mc. Graw –Hill Interamericana. 4ª edición. México; 2005.
32. Vallejo, R. Evaluación de la genotoxicidad del dicromato potásico en *Allium cepa* después de la adsorción por *Chondracanthus chamissoi* en columnas de lecho empacado. Tesis para obtener el título de biólogo. Universidad Nacional de Trujillo; 2009.
33. Díaz, A. Efecto protector del extracto etanólico de *Glycine max* sobre la citotoxicidad y genotoxicidad del dicromato de potasio en meristemos radiculares de *Allium cepa*. Tesis para optar el título de biólogo. Universidad Nacional de Trujillo; 2011.
34. Fiskesjö, G. The Allium test—an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. *Mutation Research* 1998; 97(2):243-260.
35. London, S.; Jian-Min, Y.; Fung-Lung, C.; Yu-Tang, G.; Gerhard, A.; Ronald, K., Mimi, C. Inhibition of carcinogenesis by isothiocyanates. *Hecht SS. Source University of Minnesota Cancer Center* 2000; 32(3-4):395-411.
36. Kumar, A.; Mukherjee, A. 2009. Evaluation of genotoxicity of coal fly ash in *Allium cepa* root cells by combining comet assay with the Allium test *Environmental Monitoring and Assessment* 2000; 153 (1-4): 351-35.
37. Shimotohno, A.; Matsubayashi, S.; Yamaguchi, M.; Uchimya, U. Differential phosphorylation activities of CDK – activating Kinases in *Arabidopsis thaliana*. *Cellular Biosciences* 2003; (1-3):69-74.
38. Tjio JH, Levan A. The use of oxyquinoline in chromosome analysis. *An. Estac. Exp. Aula Dei* 1950; 2 (1): 21-64. Disponible en <http://hdl.handle.net/10261/33645>
39. Kristin, A.; Jian-Min, Y.; Fung-Lung, C.; Xue-Li, W.; Van Den Berg, D.; Renwei W.; Yu-Tang, G.; Mimi, C. Isothiocyanates, glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms, and lung-cancer risk: a prospective study of men in Shanghai, China. *Journal Cancer* 2009; 125(11): 2652–2659.
40. Steel, R.; Torrie, J. Bioestadística. Principios y Procedimientos. Editorial Mc Graw-Hill S.A. 2ª Edición, México; 1993.
41. STATGRAPHICS CENTURION 16.1.15. Versión de prueba para Windows. (Fecha de acceso 03 de Agosto del 2013). Disponible en: <http://statgraphics.softonic.com/>.
42. Ito, M. Factors controlling cyclin B expression. *Me .Plant Mol. Biol* 2000; 43 (5-6):677-690.
43. Rodríguez, C. Efecto protector de concentraciones del extracto acuoso de *Minthostachys mollis* sobre la citotoxicidad y genotoxicidad inducida por el dicromato de potasio en meristemos radiculares de *Allium cepa*. Tesis para optar el título de Biólogo. Universidad Nacional de Trujillo; 2011.
44. Fajardo, K. Efecto protector del extracto etanólico de *Lupinus mutabilis* sobre la citotoxicidad y genotoxicidad del dicromato de potasio en meristemos radiculares de *Allium cepa*. Tesis para optar el título de Biólogo. Universidad Nacional de Trujillo. 2012.
45. Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. Biología Molecular de la Célula. 4ta edición. Ediciones Omega. Barcelona – España; 2006.
46. Watson, J.; Baker, T.; Bell, S.; Gann, A.; Levine, M.; Losick, R. Biología Molecular del Gen. Editorial Médica Panamericana S.A. 5ta edición. Madrid – España; 2006.
47. Verde, T. Efecto del extracto acuoso de *Cyperus rotundus* a diferentes concentraciones y tiempos de exposición sobre el ciclo celular de *Allium cepa*. Tesis para optar el título de biólogo. Universidad Nacional de Trujillo; 2009.
48. Aller, A.; De la Torre, D. The involvement of discrete genome regions in post – mitotic chromosome decondensation in G1 timing in *Allium cepa L.* meristematic cells. *Journal of Cell Science* 1992; 103: 1047-1051.

49. Mitchison, T.; Kirshner, M. Dynamic instability of microtubule growth. *Nature* 1984; 312, 237 – 242.
50. Cassimeris, L.; Lingappa, V.; Plopper, G. *Lewin Células*. Editorial Mc Graw - Hill. 2da Edición. México; 2012.