

(S3-P149)

EFFECTOS DEL ALMACENAMIENTO A BAJA TEMPERATURA SOBRE LA FISIOLÓGIA POSTCOSECHA DE ESQUEJES DE CLAVEL

M. ÁNGELES AGULLÓ-ANTÓN⁽¹⁾, JUAN RAMÓN GUERRERO⁽¹⁾, M. JESÚS SÁNCHEZ-BLANCO⁽²⁾, JOSÉ SÁNCHEZ-BRAVO⁽¹⁾ y MANUEL ACOSTA⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universidad de Murcia, Departamento de Biología Vegetal (Fisiología Vegetal)
Campus Universitario de Espinardo, 30100
Murcia, España; (+34) 968 363 000

⁽²⁾ Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, Departamento de Riego
Campus Universitario de Espinardo 30100
Murcia, España, (+34) 968 396 200

Palabras clave: cámara de Scholander – contenido relativo de agua en el punto de pérdida de turgencia (CRA_{ppt}) – economía hídrica – curvas presión-volumen (P-V) – coeficiente de elasticidad (ϵ) – potencial hídrico (ψ)

RESUMEN

La conservación postcosecha de esquejes es una etapa crítica en el sector de la propagación vegetativa de plantas de clavel (*Dianthus caryophyllus*). Generalmente los esquejes se almacenan en cámaras climatizadas a baja temperatura y elevada humedad relativa.

Se estudió la pérdida de agua de esquejes de dos variedades de clavel (Master y Pilar) en cámara y a temperatura ambiente. El contenido hídrico de los esquejes se expresó como contenido relativo en agua (CRA). Como cabía esperar el almacenamiento en frío resultó muy favorable para la conservación de ambas variedades.

A pesar de su efecto positivo las distintas variedades de clavel pueden presentar diferencias en su adaptabilidad a las condiciones de cámara. Se determinaron estas diferencias a partir del análisis de varios parámetros hídricos obtenidos empleando la cámara de Scholander.

Se observó que ninguna de las dos variedades presenta ajuste osmótico durante su almacenamiento en cámara. Sin embargo, algunos parámetros como el coeficiente de elasticidad de las paredes celulares (ϵ) o el contenido relativo en agua en el punto de pérdida de turgencia (CRA_{ppt}) se vieron claramente afectados en la variedad Pilar, determinando que ésta es más sensible al almacenamiento en cámara.

La medida del CRA junto con la de otros parámetros hídricos pueden ser unos buenos indicadores de la adaptabilidad de las distintas variedades de clavel a su almacenamiento en cámara.

LOW TEMPERATURE STORAGE EFFECTS ON CARNATION CUTTINGS POSTHARVEST PHYSIOLOGY

Keywords: Scholander chamber – Relative water content at the turgor loss point (RWC_{tlp}) – water balance – pressure-volume curves (P-V) – modulus of elasticity (ϵ) – water potential (ψ)

ABSTRACT

Postharvest preservation of cuttings is critical in the sector of vegetative propagation of carnation (*Dianthus caryophyllus*). Cuttings are normally preserved in cold stores with low temperature and high relative humidity conditions.

Water loss was studied in cold stores and at room temperature using two carnation varieties (Master and Pilar). Water content of cuttings was expressed as relative water content (RWC). As it was expected, cold storage was very positive for the preservation of both varieties.

Despite the positive effect of cold storage on cuttings, the different carnation varieties could show differences in their adaptability to cold storage conditions. These differences were determined with the analysis of some water parameters which were obtained using the Scholander chamber.

The studied varieties did not show any osmotic adjustment during cold store preservation. Despite this, some parameters as the modulus of elasticity of cell walls (ϵ) and the relative water content at the turgor loss point (RWC_{tlc}) changed in the Pilar variety, showing that it is more sensitive to cold preservation than Master.

The measurement of RWC and other water parameters could be a good gauge of the adaptability of different carnation varieties to cold storage.

INTRODUCCIÓN

El clavel (*Dianthus caryophyllus*) es una de las plantas ornamentales de mayor interés económico en todo el mundo. La propagación de plantas de clavel se hace a través de esquejes. Uno de los principales problemas a que se enfrentan los productores de clavel es adecuar la producción estacional de esquejes a la demanda. Para ello, resulta crucial el almacenamiento postcosecha de los esquejes a bajas temperaturas. El almacenamiento de esquejes de clavel en cajas cubiertas con plástico en cámaras refrigeradas a temperaturas entre 4 y 5°C viene siendo una práctica habitual en el sector de las plantas ornamentales. Gracias a esto se consigue que los esquejes se mantengan viables durante largos periodos de tiempo. No obstante, es posible que durante estos periodos los esquejes sufran una serie de ajustes y adaptaciones que podrían afectar a su estado hídrico.

Algunas de las variables que se utilizan más frecuentemente para caracterizar el estado hídrico de las plantas son el contenido relativo en agua (CRA) y el potencial hídrico (ψ). La cámara de Scholander (cámara de presión) es el instrumento más extendido para la medida rápida y sencilla del potencial hídrico (Scholander et al., 1964 y 1965).

El funcionamiento de la cámara de Scholander se basa en la aplicación de presión sobre la planta mediante un gas inerte hasta que se observa un flujo de agua por el xilema hasta la zona de corte (Figura 1). Con los valores de presión aplicada a medida que la planta se deshidrata se obtienen curvas presión-volumen (P-V) a partir de las cuales se pueden deducir los parámetros hídricos “Potencial osmótico a plena saturación” (ψ_{os}), “Potencial hídrico en el punto de pérdida de turgencia” (ψ_{ppt}), “Coeficiente de elasticidad” (ϵ), “CRA en el punto de pérdida de turgencia” (CRA_{ppt}) y “CRA apoplástica” ($CRA_{apoplástica}$).

ψ_{os} fija el límite superior de presión de turgencia que el tejido puede desarrollar (Roberts et al., 1980). Un descenso en los niveles de ψ_{os} indica ajuste osmótico. La tolerancia al estrés hídrico implica valores bajos de ψ_{os} (Morgan, 1984).

ψ_{ppt} es aquel en donde el potencial de presión (ψ_p) es cero, por lo tanto el potencial hídrico (ψ) será igual al potencial osmótico (ψ_o). Esto se considera una medida del punto de turgencia cero o plasmólisis incipiente. Se suele interpretar que las especies más tolerantes al déficit hídrico tienen un menor ψ_{ppt} (Jane y Green, 1983).

ϵ es una forma de caracterizar el comportamiento elástico de órganos turgentes por medio de un número sencillo y describe la proporción en que un pequeño cambio de volumen produce un cambio de presión en una célula de volumen determinado (Steudle et al., 1977). ϵ varía con la presión de turgencia, con el tamaño y forma celular, la composición química de las paredes celulares, la pérdida de agua apoplástica y la edad del órgano estudiado (Picolo, 1991). En un tejido elástico (con ϵ bajo), se da una menor pérdida de turgencia ante la pérdida de un determinado volumen de agua que en un tejido más rígido.

El comportamiento del CRA_{ppt} depende del ajuste osmótico, de los cambios de elasticidad en las paredes celulares o de ambos. Cuando aumenta la rigidez se ha observado que el CRA_{ppt} aumenta (Schonfeld et al., 1988).

El mantenimiento de la turgencia es fundamental para los procesos de desarrollo y crecimiento de la planta tales como la elongación celular, expansión foliar, apertura estomática y fotosíntesis. La pérdida de turgencia supone la reducción o interrupción de estos procesos (Zimmermann, 1978; Davies y Lakso, 1978). Algunos factores que contribuyen a mantener la turgencia frente a un estrés son la disminución del potencial osmótico debida al aumento de la concentración de solutos producido por una deshidratación del tejido, la disminución del potencial osmótico debida a una acumulación activa de solutos, el aumento de elasticidad de células o tejidos y un tamaño pequeño de las células (Hale y Orcutt, 1987).

El agua de los tejidos vegetales está distribuida en dos compartimentos: el agua apoplástica, que aparece en las paredes celulares y el xilema y el agua simplástica presente en el protoplasto. El agua apoplástica podría actuar como una fuente de reserva de agua (Cutler et al., 1977).

Los estudios de economía hídrica que existen hasta el momento se han realizado fundamentalmente en especies leñosas. Existen pocos estudios en herbáceas y aún menos si nos centramos en su periodo de conservación postcosecha. En este contexto y dada la gran importancia de la propagación de esquejes de clavel para el sector de las plantas ornamentales, resultaría muy útil un estudio detallado de la respuesta fisiológica de esquejes de clavel a sus condiciones de almacenamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon esquejes de clavel de las variedades monoflor Pilar y Master proporcionados por la empresa Barberet & Blanc S.A.

Estudio de la economía hídrica

Los esquejes se pinzaron y se hidrataron a 25°C durante 24 horas con el objeto de que llegasen a saturación (plena turgencia). Posteriormente se almacenaron en oscuridad en cámaras a 25 \pm 1°C y 5 \pm 1°C y se pesaron a distintos intervalos de tiempo. Las muestras de los ensayos en cámara fría se almacenaron formando mazos de 25 esquejes en bolsas de plástico cerradas imitando las condiciones de almacenamiento en la empresa. Se realizó un análisis de la evolución del CRA, cuya ecuación (Barrs y Weatherley, 1962) es:

$$CRA = (\text{Peso fresco} - \text{Peso seco}) / (\text{Peso turgente} - \text{Peso seco})$$

Los esquejes se pesaron inicialmente para obtener el peso fresco. Después se introdujeron en recipientes con agua 24 horas (tiempo suficiente para alcanzar la saturación) y se volvieron a pesar (peso turgente). Por último se desecaron en una estufa a 80°C durante 12 horas para obtener el peso seco.

Curvas Presión Volumen (P-V)

Las curvas P-V se han obtenido utilizando la cámara de Scholander (Figura 1) por el procedimiento de “libre deshidratación”. Cada curva P-V se obtuvo a partir de los datos de presión y CRA obtenidos para 6 esquejes. El procedimiento que se siguió para cada esqueje es el siguiente: se hidrató hasta saturación a baja temperatura (5°C), una vez rehidratado se introdujo en la cámara de presión y se determinó la presión de equilibrio, se despresurizó la cámara y se dejó el esqueje fuera. Este proceso se fue repitiendo sucesivamente midiendo el peso fresco del esqueje y la correspondiente presión de equilibrio. Las pérdidas de agua se dedujeron por las pesadas. El proceso concluyó con la determinación del peso seco de cada esqueje.

Las presiones de equilibrio resultantes tomadas como su valor negativo se corresponden al potencial hídrico en el simplasto. Con las presiones y los valores de CRA se obtienen curvas P-V (Figura 2) de las que se pueden obtener los parámetros hídricos ψ_{os} , ψ_{ppt} , CRA_{ppt} y $CRA_{apoplástica}$. Cuando se alcanza la región lineal en las curvas P-V la presión de turgencia de todas o la mayoría de las células del tejido es cero, siendo la presión de equilibrio igual a la presión osmótica promedio del simplasto (Tyree y Hammel, 1972). Del punto de corte con el eje Y de la línea obtenida a partir del tramo recto se obtiene ψ_{os} y del punto de corte con el eje X el $CRA_{apoplástica}$. ψ_{ppt} y el CRA_{ppt} se obtienen de la intersección de esta recta con la curva P-V. ε se obtiene a partir del CRA_{ppt} y ψ_{os} aplicando la siguiente fórmula:

$$\varepsilon = (CRA_{ppt} * \psi_{os}) / (100 - CRA_{ppt})$$

El estudio estadístico de los parámetros obtenidos se llevó a cabo mediante un análisis ANOVA univariante usando el programa estadístico SPSS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el sector de la propagación vegetativa de plantas de clavel es bien conocida la necesidad de conservar en frío los esquejes una vez que estos son separados de la planta madre. El pinzamiento de los esquejes supone una ruptura del continuo suelo-planta-atmósfera que interrumpe el aporte de agua mientras que ésta se sigue perdiendo por transpiración. Si los esquejes se almacenaran en condiciones ambientales no controladas el balance hídrico sería claramente desfavorable (Figura 3). Por ello es habitual la conservación a baja temperatura y en ambiente de elevada humedad relativa.

Pese a que el almacenamiento en cámara resulta favorable para la conservación de los esquejes, es posible que éstos se vean afectados por las condiciones y los largos periodos de almacenamiento a los que habitualmente se someten. Es bien sabido por los productores que las distintas variedades no responden por igual a la conservación en cámara. Por tanto y con el objeto de clarificar qué parámetros fisiológicos podrían determinar el comportamiento de los esquejes durante el almacenamiento en cámara, se realizó un estudio comparativo entre esquejes recién pinzados y otros almacenados durante periodos prolongados (4 semanas) en dos variedades de clavel (Pilar y Master). Los resultados para los parámetros que se obtuvieron empleando una cámara de Scholander se muestran en la Tabla 1.

Los datos de ψ_{os} indican que ambas variedades son muy semejantes y no mostraron ajuste osmótico durante el almacenamiento. Esto es lógico puesto que, en nuestras

condiciones de estudio, se reduce drásticamente el metabolismo de los esquejes por lo que la generación y acumulación de solutos se dificulta.

En el ψ_{ppt} de esquejes recién pinzados sí se observaron diferencias entre las variedades Master y Pilar, pero la conservación en cámara terminó por igualar este parámetro en ambas variedades.

ϵ aumentó con el almacenamiento en la variedad Pilar, lo que significa que sus paredes celulares se volvieron más rígidas. Este cambio resulta perjudicial en términos de adaptación hídrica puesto que las pérdidas de agua por la célula van acompañadas por cambios en el volumen del protoplasto y esto hará que el CRA_{ppt} se establezca en un CRA más alto. Esto es porque las paredes, al ser más rígidas, mantienen su volumen prácticamente invariable mientras que el volumen del protoplasto que pierde agua se va reduciendo.

En la variedad Master, al contrario que en Pilar, ϵ no se vio afectado por el almacenamiento en cámara. En este caso las paredes no se volvieron más rígidas a causa de las condiciones de almacenamiento y por tanto el CRA_{ppt} no se vio afectado en este sentido.

La variedad Pilar presenta unos valores de ϵ superiores a Master, tanto en esquejes recién pinzados como tras su almacenamiento en cámara, siendo los ϵ para Master en ambas condiciones del orden de ϵ para Pilar recién pinzados. Podríamos asegurar que la variedad Pilar es más sensible a las condiciones de conservación en la cámara.

El CRA_{ppt} siguió la misma tendencia que ϵ en todos los casos. Puesto que las modificaciones en la pared celular definen, en cierto modo, el grado de adaptabilidad de éstas a los cambios de volumen del protoplasto, esto repercute directamente en el CRA_{ppt} . El estudio realizado nos permite disponer de valores del CRA_{ppt} que sirvan de referencia para saber como se van adaptando los esquejes a las condiciones de conservación.

Los $CRA_{apoplástica}$ aumentaron durante el almacenamiento en ambas variedades.

Partiendo del estudio de la evolución del CRA de esquejes con el almacenamiento en cámara y de los datos de CRA_{ppt} obtenidos a partir de la bomba de Scholander se obtuvieron los gráficos de la Figura 4. Como se puede ver el CRA experimenta una ligera caída durante el almacenamiento en cámara hasta alcanzar valores de aproximadamente un 91% en ambas variedades.

Se puede ver que los esquejes recién pinzados (0 días en cámara) tienen un CRA superior a su CRA_{ppt} en esas condiciones. Sin embargo, a los 28 días el CRA de los esquejes está por debajo del CRA_{ppt} correspondiente. Después del almacenamiento durante 4 semanas en cámara el CRA de la variedad Pilar está sensiblemente más lejos de su CRA_{ppt} de lo que sucede con la variedad Master, lo que corrobora que la variedad Pilar es más sensible a las condiciones de almacenamiento.

En la variedad Master no se observaron diferencias en los CRA_{ppt} antes y después del almacenamiento y la diferencia entre CRA y CRA_{ppt} se mantuvo más o menos estable en todo momento. Esto significa que los esquejes Master se ven menos afectados en su estado hídrico que los de la variedad Pilar.

CONCLUSIONES

Los parámetros de las curvas P-V obtenidos con la cámara de Scholander, junto con la medida del CRA, pueden ser unos buenos indicadores de la adaptabilidad de las distintas variedades de clavel a su almacenamiento en cámara.

Las dos variedades estudiadas (Master y Pilar) presentan adaptaciones como resultado del almacenamiento en cámara, siendo Pilar la variedad que experimenta más cambios.

Los cambios que experimenta la variedad Pilar durante su almacenamiento en cámara hacen que el estado hídrico de esta variedad se vea más perjudicado que en otras variedades, por lo que serían recomendables periodos de almacenamiento lo más cortos posibles.

AGRADECIMENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto MEC/FEDER AGL-2004-07902. M.A. Agulló agradece la concesión de una beca predoctoral FPI asociada a dicho proyecto. Los autores agradecen a la empresa Barberet & Blanc S.A. (G. Garrido y E.A. Cano) su cooperación y la disponibilidad del material utilizado.

BIBLIOGRAFÍA

- Barrs, H.D.; Weatherley, P.E. 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Aust. J. Biol. Sci.* 15: 413-428.
- Cutler, J.M.; Rains, D.W.; Loomis, R.S. 1977. The importance of cell size in the water relations of plants. *Physiol. Plant.* 40: 255-260.
- Davies, F.S.; Lakso, A.N. 1978. Water relations in apple seedlings: changes in potential components, abscisic acid levels and stomal conductances under irrigated and non-irrigated conditions. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 103: 310-313.
- Davies, F.S.; Lakso, A.N. 1979. Diurnal and seasonal changes in leaf water potential components and elastic properties in response to water stress in apple trees. *Physiol. Plant.* 46:109-114.
- Hale, M.G.; Orcutt, D.M. 1987. *The Physiology of Plants Under Stress*, Wiley-Interscience, New York.
- Jane, G.T., Green, T.G.A. 1983. Utilisation of pressure-volume techniques and non-linear least squares analysis to investigate site induced stresses in evergreen trees. *Oecologia (Berlin)* 57:380-390.
- Morgan, J.M. 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 35: 229-319.
- Picolo, R. 1991. *Avaluació de sis espècies arbustives per a la seva utilització en la recuperació de zones àrides degradades: estudi del creixement i de les relacions hídriques en condicions experimentals*. Tesis Doctoral, Universitat d'Alacant.
- Roberts, S.W.; Strain, B.R.; Knoerr, K.R. 1980. Seasonal patterns of leaf water relations in four co-occurring forest tree species: Parameters from pressure-volume curves. *Oecologia (Berlin)* 46: 330-337.
- Scholander, P.F.; Hammel, H.T.; Bradstreet, E.D.; Hemmingsen, E.A. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Science (NY)* 148: 339-346.
- Scholander, P.F.; Hammel, H.T.; Hemmingsen, E.A.; Bradstreet, E.D. 1964. Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants. *Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A.* 52: 119-125.
- Schonfeld, M.A.; Jonhson, R.C.; Carver, B.F.; Mornhinweg, D.W. 1988. Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop. Sci.* 28: 526-531.
- Steudle, E.; Zimmermann, V; Lüttge, V. 1977. Effect of turgor pressure and cell size on the wall elasticity of plant cells. *Plant Physiol.* 59: 285-289.
- Tyree, M.T.; Hammel, H.T. 1972. The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressure bomb technique. *J. Exp. Bot.* 23:267-282.
- Zimmermann, U. 1978. Physics of turgor and osmoregulation. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 29:121-148.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1: Parámetros hídricos obtenidos de las curvas P-V \pm Error Estándar. La primera letra (minúscula) indica el efecto del almacenamiento en cámara y la segunda (mayúscula) el de la variedad. Las casillas con letras iguales indican que no existen diferencias significativas debidas al efecto de la temperatura y las casillas con letras diferentes indican diferencias significativas.

PARÁMETRO	VARIEDAD	Esquejes recién pinzados	Esquejes almacenados a 5°C durante 4 semanas
ψ_{os} (MPa)	PILAR	-0,79 \pm 0,05 aA	-0,88 \pm 0,03 aA
	MASTER	-0,89 \pm 0,02 aA	-0,89 \pm 0,03 aA
ψ_{oppt} (MPa)	PILAR	-0,94 \pm 0,05 aA	-0,96 \pm 0,04 aA
	MASTER	-1.12 \pm 0,05aB	-1.05 \pm 0,05 aA
ϵ (MPa)	PILAR	10,6 \pm 0,5 aA	37,5 \pm 4,2 bA
	MASTER	7,0 \pm 1,6 aB	10,4 \pm 1,7 aB
CRA apoplástica (%)	PILAR	53,4 \pm 5,7 aA	70,5 \pm 2,8 bA
	MASTER	35,0 \pm 1,4 aB	47,6 \pm 2,3 bB
CRA ppt (%)	PILAR	92,9 \pm 0,5 aA	97,6 \pm 0,3 bA
	MASTER	86,7 \pm 2,6 aB	92,1 \pm 0,2 aB

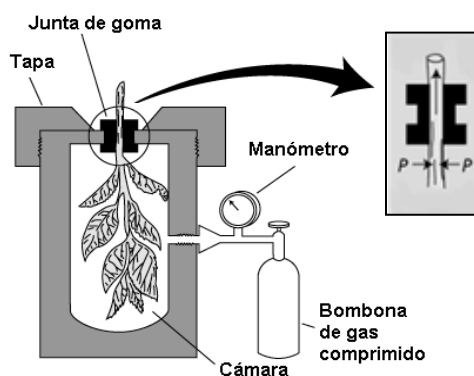


Figura 1: Esquema de una cámara de Scholander para la medida del potencial hídrico. (Adaptado de Taiz y Zeiger; Plant Physiology, 4th Edition online).

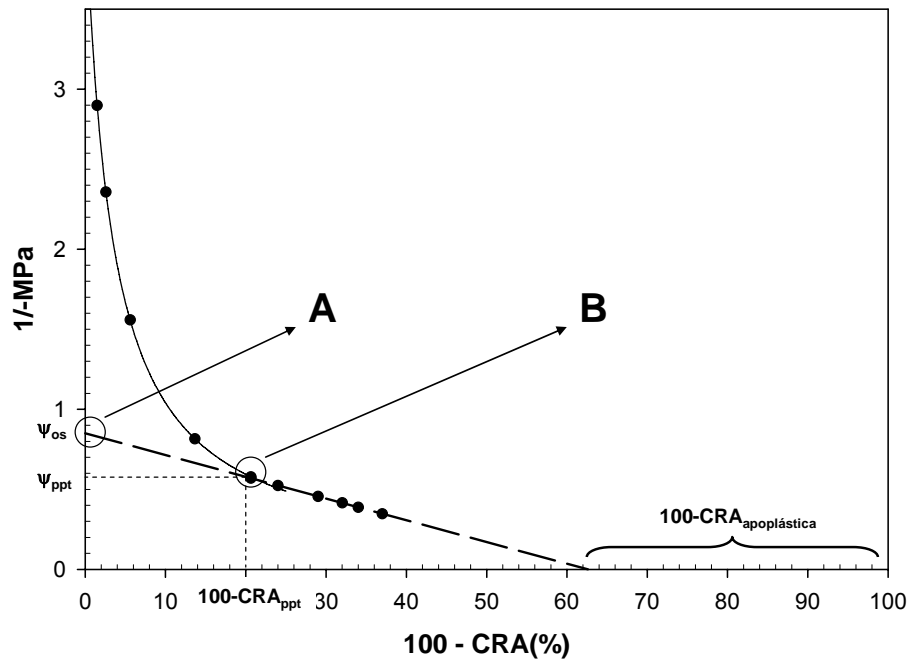


Figura 2: Curva presión-volumen donde se relacionan el inverso del potencial hídrico y el contenido hídrico de la planta. ψ_{os}^{-1} es el inverso del potencial osmótico a plena turgencia (Punto A). El ψ_{ppt}^{-1} es el inverso del potencial osmótico y CRA_{ppt} el contenido relativo de agua, ambos en el punto de pérdida de turgencia (Punto B).

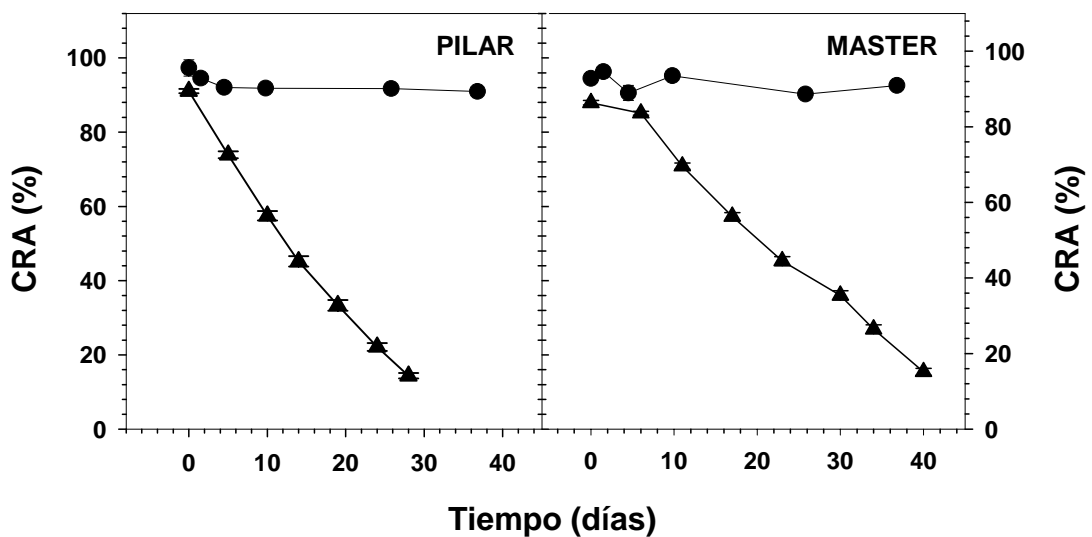


Figura 3: CRA de esquejes Master y Pilar almacenados a 5°C (●) y 25°C (▲) durante diferentes periodos de tiempo

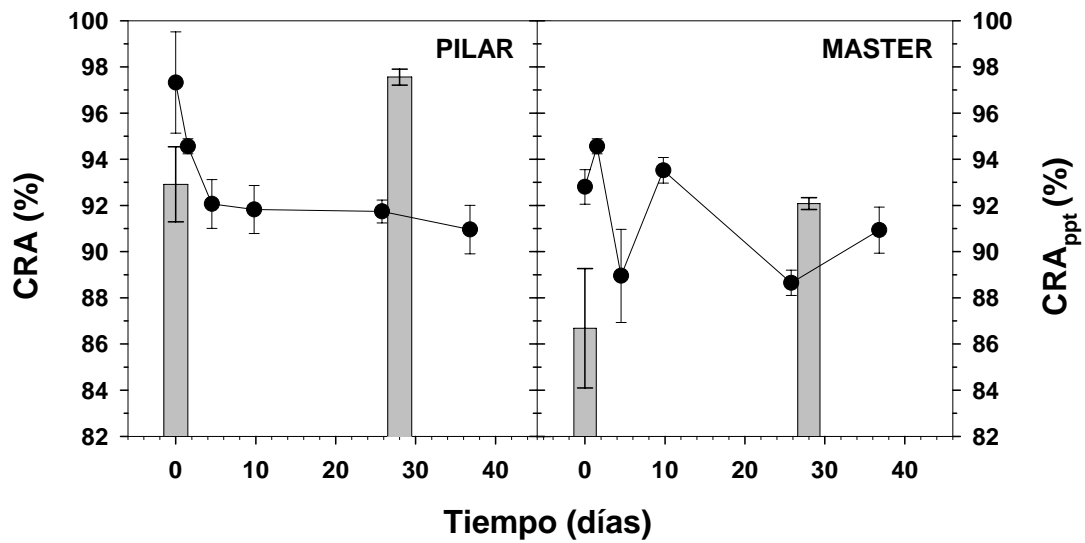


Figura 4: La línea muestra el CRA de esquejes hidratados hasta saturación y almacenados en cámara a 5°C durante diferentes periodos de tiempo. Los puntos indicados señalan valores medios \pm Error Estándar. Las barras muestran el valor de CRA ppt \pm Error Estándar de esquejes recién pinzados y de esquejes almacenados en cámara 28 días.