

## **Evaluación de la capacidad de aclimatamiento a las bajas temperaturas de pimiento *Capsicum annuum* L. cultivado en invernadero sin calefacción**

### **Evaluation of hardiness capacity to low temperatures of pepper *Capsicum annuum* L. cultivated in non heating greenhouse**

J. A. Rodríguez-Rey, E. Romero, S. Gianfrancisco,  
S. del C. David y M. E. Amado

### **Resumen**

El pimiento *Capsicum annuum* L. es una especie sensible a las bajas temperaturas. Por lo tanto este cultivo, durante los meses de otoño e invierno en las condiciones climáticas de la provincia de Tucumán, Argentina, aún en invernaderos, esta expuesto a la ocurrencia de condiciones de enfriamiento que pueden afectar su crecimiento y productividad. El propósito de este trabajo es valorar la capacidad de aclimatamiento al frío de plantas de pimiento cultivado en invernadero no calefaccionado, a través de la determinación foliar del contenido relativo de agua (C.R.A. %), de la conductividad del eflujo celular, que permitió calcular el índice de daño tisular (T.I.I.) y del contenido de azúcares reductores (C. Az. Rd). El estudio se efectuó con el híbrido PREDI F1, entre fines de marzo y noviembre, en un invernáculo no calefaccionado. Se utilizó un diseño totalmente aleatorizado, realizando 6 muestreos con tres repeticiones. Se registró diariamente la temperatura dentro del módulo. Los resultados obtenidos indican que el cultivo, en función del aclimatamiento, efectuó un ajuste de la permeabilidad de las membranas evitando una deshidratación excesiva de los tejidos, pero sin un incremento del contenido relativo de agua al mejorar las condiciones térmicas o aumentar los valores de T.I.I. Además, estos cambios no estuvieron asociados con incrementos en el contenido de azúcares reductores. Por lo tanto, en las condiciones del presente estudio, el pimiento evidenció una limitada respuesta adaptativa a la ocurrencia de bajas temperaturas.

**Palabras clave:** aclimatamiento, bajas temperaturas, *Capsicum annuum* L., evaluación, invernadero.

---

Recibido el 06-07-1999 ● Aceptado el 11-10-1999

1. Cátedra de Fisiología Vegetal – Fac. de Agronomía y Zootecnia – Cátedra Fisiología Vegetal - U.N.T.- Avda. Roca 1900 – S. M. de Tucumán C.P. 4000 - Rep. Argentina.

## Abstract

The pepper *Capsicum annuum* L. it is a sensitive specie at low temperatures. Therefore, this crop during autumn and winter months under the climatic conditions of Tucumán, Argentina, still in non heating greenhouses, it is exposed to occurrence of cooling conditions, affecting their growth and productivity. The purpose of this work is to evaluate the pepper hardiness capacity to cold through leaf determination of the relative content of water (C.R.A.%), conductivity of cellular eflux that allowed to calculate the tissue injury index (T.I.I.) and reducers sugars content (C. Az. Rd). The study was made with the hybrid PRE-DICTS F1, during march and november, in a non heating greenhouse. A completely randomized design was used, carrying out 6 surveys with three replications. Internal greenhouse temperature was registered daily. The information show that pepper, in relation to hardiness, made an adjustment of membranes permeability avoiding to excessive desiccation of tissues, but without an increment of the relative content of water when thermal conditions are improved or TII values are increased. Also, these changes were not associated with increments sugars reducers contents. Therefore, under the conditions of this study, the pepper evidenced a limited capacity of adaptation to the occurrence of low temperatures.

**Key words:** *Capsicum annuum* L., evaluation, greenhouses, hardiness, low temperatures.

## Introducción

Las bajas temperaturas limitan la distribución estacional y geográfica de las especies de origen tropical y subtropical, pero éstas pueden ser capaces de incrementar su resistencia por un proceso conocido como aclimatamiento. A pesar de ello, algunas especies pueden ser afectadas por fenómenos de enfriamiento.

El pimiento *Capsicum annuum* L. es una especie sensible a las bajas temperaturas y como señalan algunos autores (7, 15) este cultivo detiene su crecimiento a los 10°C. Por lo tanto, en las condiciones climáticas de la provincia de Tucumán, Argentina, aún bajo cubierta no calefaccionada, en los meses de otoño e invierno puede ser

afectado su crecimiento y productividad por condiciones de enfriamiento (6).

Existen numerosos trabajos que relacionan el aclimatamiento al frío con cambios bioquímicos, tales como la acumulación de solutos (2, 16). Además, se han propuesto distintas metodologías (8, 12, 14) para la determinación del grado de daño que sufren los vegetales durante el enfriamiento, señalando entre otros, la relación agua/solutos de importancia en el fenómeno de resistencia al frío, relación que está regulada por la permeabilidad de las membranas celulares.

El objetivo del presente trabajo es valorar la capacidad de aclimata-

miento al frío, de pimiento *Capsicum annuum* L. cultivado en invernadero no calefaccionado, a través de las determinaciones foliares del contenido relativo de agua (C.R.A. %), del índice

de daño tisular (T.I.I.) y del contenido de azúcares reductores (C. Az. Rd), durante el periodo de ocurrencia de bajas temperaturas.

## Materiales y métodos

El ensayo se efectuó entre fines de marzo y noviembre, en un invernáculo ubicado en la localidad de San Felipe (26°53' Lat. S. y 65°14' Long. O.), provincia de Tucumán, Argentina.

Se trabajó con el híbrido de pimiento PREDI F1, sembrando el almácigo a fines de febrero y realizando el trasplante el 29 de marzo, en un módulo de 23 metros de ancho por 100 metros de largo y 4,5 metros de alto. Las plantas se colocaron en filas de 22 metros de largo, distanciadas a 1,20 metros, con una densidad de 3,33 plantas/m<sup>2</sup>. El manejo del cultivo fue el característico de las explotaciones comerciales de la zona, que involucra el entutorado, fertirrigación controlada y tratamientos sanitarios preventivos.

Se empleó un diseño totalmente aleatorizado con tres repeticiones (1 fila de plantas por repetición). Se realizaron 6 muestreos sucesivos de material foliar desde la fecha del trasplante. Sobre este material se evaluó el contenido relativo de agua (C.R.A. %) según técnica de Stocker (18). Se determinó la conductividad del eflujo de células congeladas y descongeladas, según la técnica de Dexter (5), modificada por Amado y Rodríguez Rey (1). Se incubó una mitad de cada muestra a 25°C durante 15 horas y la otra mitad se colocó en freezer a -10°C durante 2 horas, para luego incubarla de igual manera que la

porción testigo. Sobre la base de los resultados de conductividad del eflujo celular se calculó el índice de daño Tisular (T.I.I.: Tissue Injury Index) descrito por Singh y Konwar (17): T.I.I. = Conductividad del Testigo/Conductividad del Tratamiento.

Para la determinación del contenido de azúcares reductores se utilizó el método de Cronin y Smith (4) sobre muestras de hojas secadas en estufa (70°C durante 24 horas), expresando los resultados como mg de glucosa/gr. materia seca.

Se registró la temperatura en grados centígrados dentro del módulo, 3 veces por día (8, 14 y 18 horas), considerando al registro de las 8 horas como el nivel térmico mínimo. Los valores de temperatura mínima, como la de los tres parámetros estudiados (incluyendo sus repeticiones) fueron ajustadas en función del tiempo (días desde el trasplante: DDTR) a ecuaciones de tipo polinómico de grado 6 y 7, usando a tal efecto el programa de computación Jandel Scientific TblCurve versión 3.10 (1992) AISN Software. Para evaluar las relaciones entre los diferentes indicadores metabólicos analizados entre sí, como también respecto de la temperatura mínima, se utilizaron técnicas de regresión en una o dos fases.

A fin de valorar la importancia

relativa de cada variable evaluada (DDTR; temperatura mínima, y C.R.A., T.I.I. y C.Az. R.) en la varianza total de

cada indicador metabólico, se utilizaron técnicas de regresión múltiple.

## Resultados y discusión

En el cuadro 1 se presentan las ecuaciones de ajuste seleccionadas para la temperatura mínima y para los distintas variables metabólicas estudiadas, acompañados del valor del coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y del estadístico F. Se observa en todos los casos, ajustes significativos ( $P < 0,01$ ).

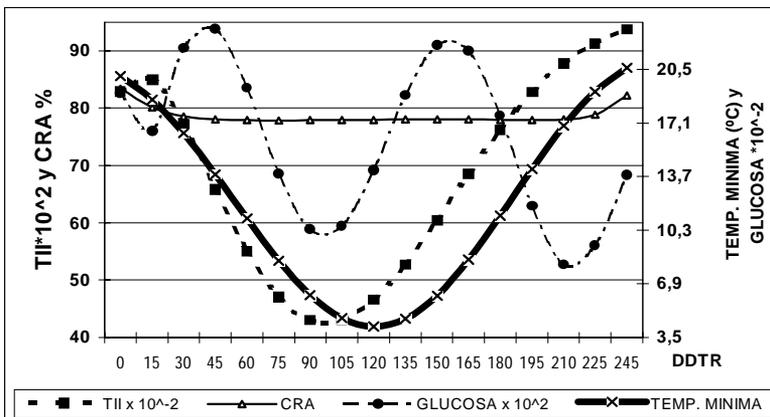
En la figura 1 se ilustra el comportamiento de las variables citadas durante el ciclo de cultivo (DDTR), evidenciando cada una de ellas dinámicas diferentes.

El T.I.I. muestra una tendencia parabólica, con valores inferiores a 0,6 entre los 60 y 150 DDTR y los máximos al inicio y final del ciclo. Manifiesta, a su vez, un comportamiento semejante a la evolución de la temperatura mínima, la que evidenció registros

menores a  $10^{\circ}\text{C}$  entre los 65 y 175 DDTR, con los máximos valores en el inicio y fin del período de cultivo. El C.R.A.% se mantuvo prácticamente constante entre los 40 y 220 DDTR, con los mayores valores al inicio y fin del ciclo. El contenido de azúcares reductores, en cambio evidencia un comportamiento ondulado a lo largo del ciclo de cultivo, con picos de máxima a los 45 y 155 DDTR y de mínima a los 100 y 215 DDTR.

En las figuras 2 A, B y C se observan las relaciones detectadas entre el comportamiento de T.I.I., C.R.A.% y de C. Az. R. con la temperatura mínima.

Se destaca en primer lugar, figura 2 A una estrecha y significativa asociación ( $P < 0,05$ ) entre la variación

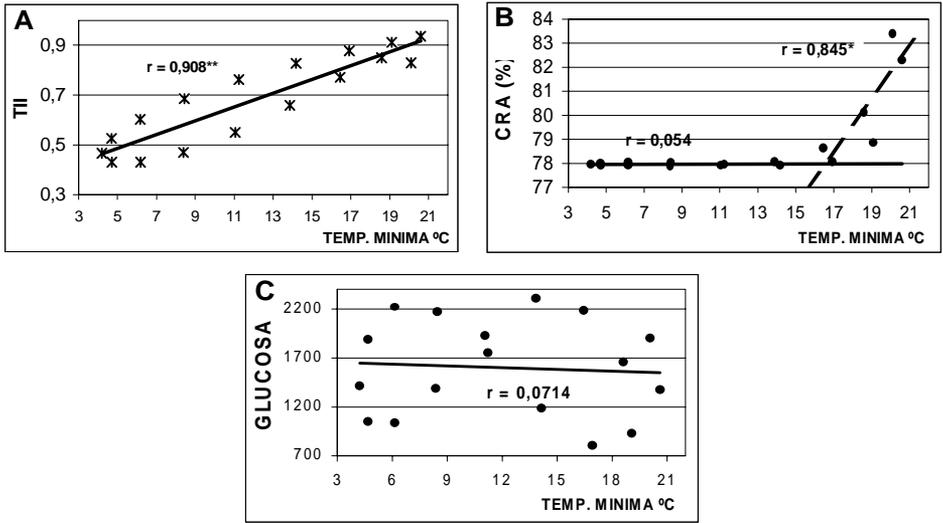


**Figura 1. Variación de la temperatura mínima, T.I.I., CRA% y contenido de azúcares reductores en función de los días desde el transplante.**

**Cuadro 1. Ecuaciones de ajuste seleccionadas para la temperatura mínima, T.I.I., C.R.A.% y el contenido de azúcares reductores en función de los días desde el transplante. Se incluyen los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) y la significación estadística.**

Variable	Ecuación	$R^2$	Prueba F
Temperatura mínima (°C)	$y=20,1-0,081x-1,21e^{-3}x^2-1,17e^{-5}x^3+2,74e^{-7}x^4-1,22e^{-9}x^5+1,63e^{-12}x^6$	0,98	14,62**
T.I.I.	$y=0,83+6,34e^{-3}x-4,05e^{-4}x^2+5,02e^{-6}x^3-2,54e^{-8}x^4+5,86e^{-11}x^5-5,11e^{-14}x^6$	0,99	76,59**
CRA	$y=83,4-0,31x+7e^{-3}x^2-8,32e^{-5}x^3+5,44e^{-7}x^4-1,85e^{-11}x^5+2,53e^{-12}x^6$	0,99	2627,80**
Glucosa	$y=1899,14-96,14x+8,07x^2-0,216x^3+2,6e^{-3}x^4-1,54e^{-5}x^5+4,48e^{-8}x^6-5,05e^{-11}x^7$	0,99	456,40**

\*\* : significativos al 5%



**Figura 2. Relaciones entre los distintos parámetros metabólicos con la temperatura mínima: A) T.I.I.; B) CRA %; C) Contenido de azúcares reductores. Se presenta la tendencia de la relación y el coeficiente de correlación (r). \*\*: significativo al 1%; \* significativo al 5%.**

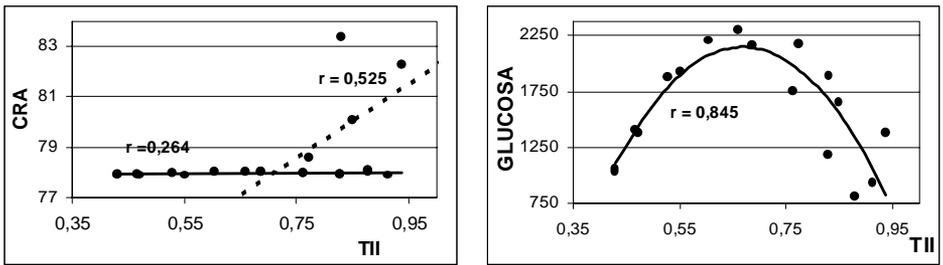
del T.I.I. y la temperatura mínima. En la relación entre el C.R.A.% y el comportamiento térmico (figura 2 B), se destacan dos fases: una primera etapa, entre los 4 °C y 16 °C, en la que los cambios de temperatura no modifican el comportamiento de CRA% y una segunda fase de respuesta positiva y significativa, a niveles térmicos mayores de 16 °C, en la que el aumento de temperatura se asocia linealmente con incremento en este indicador metabólico. En cambio, el C.Az. R. no manifestó asociación con las modificaciones de la temperatura mínima (figura 2 C).

En la figura 3, se muestra las relaciones entre los indicadores metabólicos. Se observa que la relación entre CRA % y T.I.I. presenta también

dos etapas de respuesta. La primera fase, entre valores de T.I.I. de 0,40 a 0,68, donde el CRA no manifiesta respuesta, luego una segunda fase donde incrementa linealmente, aunque sin significación estadística, ante aumentos de T.I.I. El C. Az. R., en cambio muestra una respuesta parabólica con los máximos registros a valores intermedios (0,60 – 0,70) del T.I.I.

En el cuadro 2 se analiza la incidencia relativa en la varianza total de los distintos factores involucrados en el comportamiento de cada parámetro metabólico.

Analizando el índice de daño tisular, se observa que los factores estudiados explicaron cerca del 95% de su varianza total y que el principal



**Figura 3. Relaciones entre CRA % (A) y el contenido de azúcares reductores (B) respecto de T.I.I. Se presenta la línea de tendencia y el coeficiente de correlación ( $r$ ).**

factor que explica la mayor parte de su comportamiento es la temperatura mínima. En un segundo nivel aparece la evolución temporal del cultivo, incidiendo muy poco los restantes indicadores metabólicos. En el comportamiento del CRA %, se destaca en primer lugar, que prácticamente la mitad de su variabilidad no pudo ser explicada por los factores estudiados y, además, la temperatura mínima constituye prácticamente el único factor estudiado que influyó de manera importante. En cuanto al contenido de azúcares reductores, se observa también que prácticamente la mitad

de su varianza no pudo ser explicada por los factores en estudio. A su vez, se destaca claramente que su comportamiento fue totalmente independiente de la temperatura mínima, influyendo en niveles semejantes la evolución temporal del cultivo (DDTR) y el comportamiento de T.I.I.

El aclimatamiento es el resultado de la acción de varios mecanismos de crioprotección (9, 13). Numerosos investigadores han demostrado la ocurrencia de un aumento en el contenido de carbohidratos solubles durante el aclimatamiento a bajas temperaturas, asociado a un incre-

**Cuadro 2. Incidencia relativa de los distintos factores involucrados en la varianza total de cada parámetro metabólico.**

Fuentes de variación	Participación relativa %		
	T.I.I.	C.R.A.	Azúcares reductores
Factores no evaluados	5,37	48,85	47,1
Días desde el trasplante	17,63	3,64	29,91
Temperatura mínima	74,08	44,04	1,2
Azúcares reductores	2,37	0,04	—
C.R.A.	0,55	—	1,03
T.I.I.	—	3,43	20,76

mento del contenido osmótico a nivel celular y a un efecto crioprotector de estos carbohidratos sobre las membranas, lo que disminuye la desecación (3, 9, 10, 11).

La información analizada en este trabajo, destaca que el Índice de Daño Tisular es el único indicador metabólico que evidenció, en pimiento cultivado en invernáculo, respuesta o modificaciones significativas ante variaciones en las condiciones térmicas, influyendo también, aunque con una incidencia, mucho menor, el factor tiempo o edad del cultivo.

Por lo tanto, el comportamiento de T.I.I. indicaría una adaptación del cultivo a las bajas temperaturas, como manifestación indirecta de cambios acontecidos en la permeabilidad de las membranas celulares, posiblemente asociado a una mayor retención de solutos. Además, debido a la poca influencia del factor tiempo (DDTR), puede inferirse que el aclimatamiento no estuvo fuertemente asociado con la edad cronológica del cultivo, sino que fue inducido fundamentalmente por el factor térmico. Sin embargo, estos cambios detectados en el índice de daño tisular no estuvieron suficientemente acompañados por variaciones en los restantes parámetros metabólicos evaluados.

En el caso del C.R.A. se observó un comportamiento constante en gran parte del ciclo de cultivo y si bien el 44% de su varianza fue explicada por la temperatura mínima, este parámetro no mostró capacidad de respuesta a modificaciones térmicas por debajo de los 16 °C. Además, evidenció una muy baja asociación general con los

cambios de T.I.I., con cierta respuesta recién a valores mayores a 0,70. Pero, conviene destacar que si bien entre los 4 y 16°C no se observaron incrementos en el contenido relativo de agua, tampoco se detectaron disminuciones en su nivel, lo que implicaría que durante las condiciones de enfriamiento no ocurrieron cambios significativos en los tejidos foliares.

El contenido de azúcares reductores mostró un comportamiento ondulante durante el ciclo de cultivo y prácticamente independiente de los cambios térmicos, siendo la porción explicada de su variabilidad asociada en mayor medida con la evolución ontogénica del cultivo y en un segundo nivel con la variación de T.I.I.. Por lo tanto, lo descrito no coincide con el comportamiento esperable y señalado para otras especies en las que se detecta un aclimatamiento efectivo (3, 9, 10, 11).

Además, prácticamente la mitad de la varianza de C.R.A. y del C. Az. Rd. no pudo ser explicada por los factores estudiados, lo cual indicaría que en gran medida la variación de estos indicadores depende fuertemente del comportamiento de otras variables, posiblemente de tipo ambiental, de manejo y/o asociadas a cambios ontogénicos del cultivo.

Sobre la base del comportamiento descrito podría inferirse que el cultivo, en función del aclimatamiento, efectuó un ajuste de la permeabilidad de las membranas evitando un desecamiento excesivo de los tejidos, pero sin un incremento posterior del contenido relativo de agua al mejorar las condiciones térmicas o aumentar los

valores de T.I.I., semejantes a lo que se observó a partir de los 16 °C y con niveles del índice de daño tisular mayores a 0,7.

Pero indudablemente, lo más importante es que estos cambios no estuvieron acompañados con incrementos de significación en el contenido de azúcares reductores que pudieran favorecer un aumento importante en el contenido de solutos y una mayor

retención de agua y por lo tanto permitir la generación de mecanismos eficientes de crioprotección.

Por lo tanto, los resultados obtenidos en esta experiencia permiten inferir que, en las condiciones experimentales detalladas y coincidentes con el manejo del cultivo típico de la zona, el pimiento posee una limitada capacidad de aclimatamiento a las bajas temperaturas.

## Literatura citada

1. Amado M. E. y J. A. Rodríguez Rey. 1984. Evaluación del aclimatamiento y daño tisular a bajas temperaturas en tres variedades de caña de azúcar. *Miscelánea N° 85. F.A.Z., U.N.T.*
2. Apostolova E. ; M. Busheva and B. Tenchov. 1994. Inactivation and protection of photosystem 2 particles during freezing. *Photosynthetica* 30(3) : 475-479.
3. Bauer H., R.; Pamer C. Perathoner and M. Loidoltnagele. 1996. Photosynthetic depression in leaves of frost hardened ivy's not caused by feedback inhibition via assimilate accumulation. *J. Plant Physiol.* 149 :51-56.
4. Cronin D.A. and S. Smith. 1979. A simple and rapid procedure for the analysis of reducing, total and individual sugar in potatoes. *Potato Res.* 22: 99-105.
5. Dexter S. T., W.E. Tottingham and L.F. Graber. 1932. Investigations of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity. *Plant Physiol.* 7 :63-78.
6. Gianfrancisco S.; M.E. Amado; E.R. Romero; A.M. de Marchese; J.A. Rodríguez Rey . 1996. Efecto de tres tratamientos de recuperación de plantas de pimientos sometidas a bajas temperaturas, sobre los tenores de azúcares reductores. *Actas de la XXI Reunión de Fisiología Vegetal.* Mendoza. Argentina.
7. Gil Ortega R. 1191. *Horticultura.* Año III. Edagricole. España.
8. Graham D. and B. D. Patterson. 1982. Responses of plants to low, nonfreezing temperatures : proteins, metabolism, and acclimation. *Annual Rev. Plant Physiol.* 33 : 347-372.
9. Hinch D.K. ; U. Sonnewald; L. Willmitzer and J. Schmitt. 1996. The role of sugar accumulation in leaf frost hardiness. Investigations with transgenic tobacco expressing a bacterial pyrophosphatase or a yeast invertase gene. *J. Plant Physiol.* 147 : 604-610.
10. Hurry M. V. ; A. Strand; M. Tobiassom; P. Gardestrom and G. Oquist. 1995. Cold hardening of spring and carbohydrate content. *Plant Physiol.* 109 :697-706.
11. Jitsuyama Y.; T. Susuki; T. Harada and S. Fujikawa. 1997. Ultrastructural study on mechanism of increased freezing tolerance due to extracellular glucose in cabbage leaf cells. *Cryo-Letters* 18: 33-34.
12. Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stress. Vol I. Chilling, freezing, and high temperature stresses. Academic Press.
13. Livingston III, D. P.; C.R. Olien and R. D. Freed. 1989. Sugar composition and freezing tolerance in barley crowns at varying carbohydrates levels. *Crop SCI.* 29 :1266-1270.
14. Olien, R. C and M.N. Smith. 1981. Analysis and improvement of plant cold hardiness. CRC Press, Inc.

15. Pilatti, R.A. 1997. Cultivo bajo invernaderos. Centro Publicaciones UNL de Hemisferio Sur S.A. 146 p.
16. Sasaki, H., K. Ichimura and M. Oda. 1996. Changes in sugar content during cold acclimation and desacclimation of cabbage seedlings. *Annals of Botany* 78 :365-369.
17. Singh O. and R. S. Konwar. 1978. Physiological evaluation of sugar cane germplasm for frost resistance. *Int. Sug. J.* 80(953) : 139-141.
18. Stocker O. 1928. Das wasserhaushalt agyptischer wüsten-und sazplanzen. *Botan Abhandl* 13:431-438.