

Efecto de tratamientos de recuperación en plantas de pimiento sometidas a bajas temperaturas¹

Effect of recovery treatments on pepper plants exposed to low temperatures

J. A. Rodríguez Rey^{2,3}, E. R. Romero³, M.E. Amado³,
S. Gianfrancisco³, S. del C. David³.

Resumen

El pimiento es una especie sensible al enfriamiento y su cultivo en época invernal provoca daños que reducen la producción. El objetivo de la investigación es evaluar el efecto de tratamientos químicos en la recuperación de plantas de pimiento afectadas por bajas temperaturas, a través de la determinación de la conductividad del eflujo celular y de la actividad de enzimas deshidrogenasas. Se utilizaron plantas cultivadas en invernáculo no calefaccionado y se les aplicaron diferentes tratamientos químicos, luego que fueran expuestas al efecto de bajas temperaturas. Los tratamientos fueron (1) testigo; (2) una solución de nutrientes minerales; (3) la alternativa anterior agregando sacarosa; (4) el tratamiento tres suplementado con levadura. Se realizaron 4 muestreos sucesivos con 3 réplicas. Se determinó la actividad deshidrogenasa y la conductividad del eflujo celular, calculando el índice de daño tisular. Todos los tratamientos manifestaron efectos favorables en la recuperación de plantas estresadas; pero el tratamiento correspondiente al agregado de solución de micronutrientes, sacarosa y levadura resultó el más eficiente, como lo evidencian el menor daño de las membranas celulares y una menor actividad deshidrogenasa en el tiempo, lo cual significaría una respuesta de recuperación a la acción de las bajas temperaturas o bien una disminución de su acción.

Palabras clave: aclimatamiento, actividad deshidrogenasa, daño tisular, pimiento, *capsicum annum*.

Abstract

Pepper is a specimen to sensitive cooling and culturing season during winter time causes damages that reduce production. The objective of the present investigation is to evaluate the effects of chemical treatments on the recovery of pepper plants affected by

Recibido el 1-12-1999 ● Aceptado el 15-11-2000

1. Proyecto de investigación financiado por el Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional de Tucumán (CIUNT).

2. Autor para correspondencia.

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

low temperatures, by determining of the conductivity of the cellular eflux and the activity of dehydrogenase enzymes. Plants cultivated in greenhouse non warmed were used. Different chemical treatments were applied to those plants that suffered the effect of low temperatures previously. The treatments were (1)control; (2) a solution of mineral nutrients; (3) the previous alternative with added sucrose; (4) the treatment (3) supplemented with yeast. Four samplings were made replications. The dehydrogenase activity and the conductivity of the cellular eflux were determined, calculating with this last parameter, the index of tissue damage. All the treatments showed a favourable effect on recovery of the streded plants; but treatment four was the most efficient, as evidenced by the smaller damage of cellular membranes and a smaller dehydrogenase activity.

Key Words: Acclimation, dehydrogenase activity, pepper, tisular damage, *capsicum annum*

Introducción

La planta de pimiento (*Capsicum annum* L.), de origen tropical, es una especie susceptible a las bajas temperaturas (10,20,21). Para evitar la influencia de las bajas temperaturas que normalmente ocurren en la provincia de Tucumán, Argentina, el cultivo invernal se realiza bajo cubierta plástica sin calefacción. A pesar de esto, en la época invernal el cultivo sufre procesos de enfriamiento y en algunas circunstancias de temperaturas mínimas extremas, se produce el fenómeno de congelamiento. En estas ocasiones, las plantas retrasan su producción con el consiguiente perjuicio económico. A fin de facilitar la recuperación del cultivo, los productores recurren a la aplicación de productos químicos y prácticas agronómicas cuya eficiencia no está cuantificada.

En la bibliografía, no se encontraron antecedentes de tratamientos específicos en pimiento que puedan favorecer la recuperación de las plantas afectadas por el enfriamiento.

Isabekov *et al.*(14) y Guy (11) expresan que la concentración molar del

protoplasma es fundamental en la resistencia al frío, para evitar la deshidratación asociada a los efectos de las bajas temperaturas. Otros investigadores (11,16) consideran a la sacarosa como una sustancia crioprotectora, cuyo incremento es una respuesta adaptativa para proteger a las células de la deshidratación. Debido a ello, la aplicación de este disacárido podría aumentar la capacidad de reacción metabólica de los tejidos foliares afectados, lo cual resultaría esencial para el resto del cuerpo de la planta.

Algunos investigadores (5, 6, 11) reportan la formación de proteínas crioprotectoras, que se sintetizan durante el aclimatamiento a las bajas temperaturas. Estas proteínas (7, 8, 12, 17, 25) son principalmente hidrofílicas y poseen en su composición los aminoácidos glicina, treonina e histidina. Paz *et al.* (19) indican que la levadura de cerveza constituye una fuente económica de aminoácidos como glicina e histidina.

La determinación de la conductividad del eflujo celular, es una técnica empleada frecuentemente para evaluar el daño ocasionado por las bajas temperaturas en la funcionalidad de las membranas celulares (2, 4, 9, 13, 18). Otro parámetro utilizado para cuantificar los efectos de las bajas temperaturas en diferentes especies, lo constituye la actividad de enzimas

deshidrogenasas (15), determinadas por el método del Tetrazolium (3, 15, 23, 24).

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de tres tratamientos químicos en la recuperación de plantas de pimiento afectadas por bajas temperaturas, utilizando como parámetros la conductividad del eflujo celular y la actividad de enzimas deshidrogenasas.

Materiales y métodos

Se trabajó con pimiento Var. Predí F1, en una plantación comercial, en invernáculo no calefaccionado en la localidad de San Felipe (23°53' latitud S y 65° 14' longitud O), provincia de Tucumán, Argentina, durante el año 1997.

La siembra en almácigo se realizó en el mes de febrero, en condiciones controladas de temperatura y humedad. El trasplante se llevó a cabo a los 32 días, en filas de 22 m de largo y distanciadas a 1,20 m, colocando 4 plantas por metro lineal. El manejo fue el característico de las explotaciones comerciales de la zona, con entutorado, fertirrigación controlada y tratamientos sanitarios preventivos.

Se empleó un diseño totalmente aleatorizado con 3 repeticiones (1 fila de plantas por repetición). Se realizaron 4 muestreos sucesivos de material foliar desde la fecha de trasplante. Se registró la temperatura mínima, máxima y media diarias, considerándose las temperaturas de las 7:30 horas como las mínimas, a los fines del ensayo.

Para las determinaciones de la conductividad del eflujo celular se utilizó la técnica de Dexter (9) con la

modificación de Amado *et al.* (2). La mitad de la muestra fue incubada a 20°C durante 15 horas y la mitad restante se colocó a -10°C durante 2 horas para luego incubarla de igual manera que la anterior.

Se determinó la actividad de las enzimas deshidrogenasas con el método de Tetrazolium, utilizado para tal fin por diversos autores (1,2, 15, 22, 23,24). Se realizaron las primeras determinaciones para obtener los valores iniciales del cultivo previo a la ocurrencia de las bajas temperaturas; cuando la temperatura mínima extrema a las 7:30 horas fue de 2°C en el interior del invernáculo, se procedió a la aplicación de los siguientes tratamientos:

- 1- (T) Testigo
- 2- (S) Una solución compuesta por: Nitrógeno 750; Fósforo 195; Potasio 200; Zinc 1,6; Cobalto 0,6; Manganeso 2,1; Boro 6,6; Molibdeno 0,018 y ácido naftalén acético 0,6, expresados en mg.L⁻¹
- 3-(S+A) A la solución anterior se le agregó 3000 mg.L⁻¹ de sacarosa
- 4-(S+A+L) A la solución (S+A) se agregó 3000 mg.L⁻¹ de levadura de

cerveza comercial.

A partir de los 20 días de ocurrido el enfriamiento, se procesó el material vegetal, incubando la mitad del mismo a temperatura ambiente durante 2 horas y al resto se lo colocó a -10°C por igual período de tiempo.

Con la información de la conductividad del eflujo celular se calculó el Índice de Daño Tisular, denominado T.I.I. (Tissue Injury Index) y descripto por Singh *et al.* (22)

T.I.I.= Conductividad del testigo/
conductividad del tratamiento

La determinación de enzimas

deshidrogenasas por el test de Tetrazolium, se calculó a través del Índice de Actividad Deshidrogenasa (A.D.) descripto por Steponkus *et al.* (3, 22, 23).

A.D.= Actividad Absoluta del Tratamiento/Actividad Absoluta del Testigo

Los valores originales de los distintos parámetros y la información térmica fueron ajustados a distintas funciones matemáticas, en función de los días desde el transplante, usando a tal efecto el programa de computación Jandel Scientific TblCurve versión 3.10 AISN Software.

Resultados y discusión

Los valores de ajuste matemático del T.I.I. en función a los resultados originales obtenidos se muestran en el cuadro 1.

La representación gráfica de los valores calculados de T.I.I. en los diferentes tratamientos y de las temperaturas mínimas medias se representan en la figura 1. Al considerar los valores de T.I.I. correspondientes al testigo, se observa que alcanzan un valor mínimo en el mes de julio, en correspondencia con la mínima temperatura registrada, y luego un posterior ascenso; ésto indica un proceso de aclimatamiento al reducir la fuga de electrolitos ocasionada por las bajas temperaturas, lo que coincide con lo descripto por Amado *et al.* (3) y Singh *et al.* (22).

En la figura 1, se visualiza en el tratamiento 1 (T) la influencia de las bajas temperaturas en el sistema de membranas celulares de las plantas de pimiento. En el primer muestreo los valores de T.I.I. son

altos, indicando la falta de aclimatamiento, mientras que en el segundo muestreo los valores de daño son menores, al igual que en el tercero. El cuarto valor muestra que la planta está completamente desaclimatada.

Al comparar el testigo con respecto a los tratamientos, se observa que el menor valor de T.I.I., posterior a la ocurrencia de las bajas temperaturas (mes de julio), corresponde al tratamiento 4 (S+A+L), aumentando los mismos en el tratamiento 3 (S+A), tratamiento 1 (T) y tratamiento 2 (S). Puesto que los valores mayores de T.I.I. demuestran la mayor sensibilidad a las bajas temperaturas, los tratamientos 4 (S+A+L) y 3 (S+A) resultan los mas efectivos. En el siguiente muestreo (agosto), se observa un mejor comportamiento de todas las alternativas evaluadas respecto del testigo (T), puesto que los valores de T.I.I. son menores en todos los casos, destacándose los tratamientos 2 (S) y 4 (S+A+L).

Considerando los efectos de los

Cuadro 1. Valores de ajuste matemático del T.I.I. y de las temperaturas mínimas medias en función de los días desde trasplante.

Tratamientos	Ecuación	a	b	c	d	r ²	F
T	$y=a+b\exp(-0.5((x-c)/d)^2)$	0,870	-0,4217	137,2	19,74	1,00	3,15 e+22
S	$y=a+bx+cx^2$	2,968	-0,0326	1,08 e-04	-	0,96	14,5
S+A	$y=a+b/(1+((x-c)/d)^2)$	0,950	-0,9032	139,1	17,68	1,00	3,70 e+20
S+A+L	$y=a+b\sin(2\pi x/d+c)$	0,627	0,3126	-3,323	109,8	1,00	7,61 e+27
TMM (7.30 h)	$y=a+b\sin(2\pi x/d+c)$	13,01	5,6974	1,31 e-03	163,6	1,00	7,53 e+23

TMM: Temperatura mínima media.

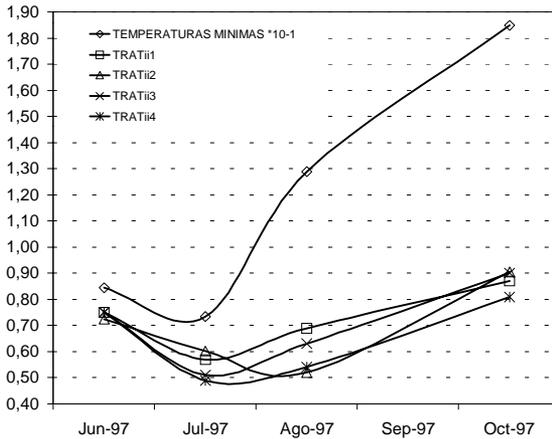


Figura 1. Valores de T.I.I. en los diferentes tratamientos de recuperación en plantas de pimienta afectadas por las bajas temperaturas y temperaturas medias mínimas en función del tiempo.

tratamientos en todo el período de estudio, se observa que el tratamiento 2 (S) muestra valores inferiores al testigo, con la excepción del muestreo del mes de julio. En el mes de agosto, todos son menores en comparación al testigo, destacándose los tratamientos 2 (S) y 3 (S+A). En el muestreo de octubre, los tratamientos 2 (S) y 3 (S+A) tienen un comportamiento similar al testigo, con altos valores de T.I.I.; el tratamiento 4 (S+A+L) presenta un valor inferior, por lo que el mismo podría considerarse como la alternativa química que mejora la recuperación del cultivo durante el período de estudio.

Los valores de ajuste matemático de

la actividad deshidrogenasa en pimienta para los diferentes tratamientos de recuperación de las plantas enfriadas se presentan en el cuadro 2.

En la figura 2 se representan los valores de actividad deshidrogenasa ajustados en el tiempo. El análisis de los resultados muestra un aumento de la actividad deshidrogenasa en respuesta a la acción de las bajas temperaturas, lo que concuerda con lo expresado por Krasnuk *et al.* (15) y Guy (11). En los tratamientos de recuperación evaluados, se observa en las distintas fechas de muestreo, menores niveles de la A.D. en relación al testigo, lo cual indica un efecto general favorable ya que disminuyen la respuesta a la acción

Cuadro 2. Valores de ajuste matemático de la actividad deshidrogenasa en plantas de pimienta para los diferentes tratamientos de recuperación.

Trat.	Ecuación	a	b	c	r ²	F
T	$y=a+bx+cx^2$	-0,636	0,0139	-3,15 e-05	0,95	11,0
S	$y=a+ bx+cx^2$	0,857	-0,0071	3,50 e-05	0,92	6,15
S+A	$y=a+ bx+cx^2$	-0,845	0,0172	-4,72 e-05	0,99	171
S+A+L	$y=a+ b(x)^{0.5}lnx+cexp-x$	0,672	-0,0013	-1,67 e+45	0,99	1,33 e+07

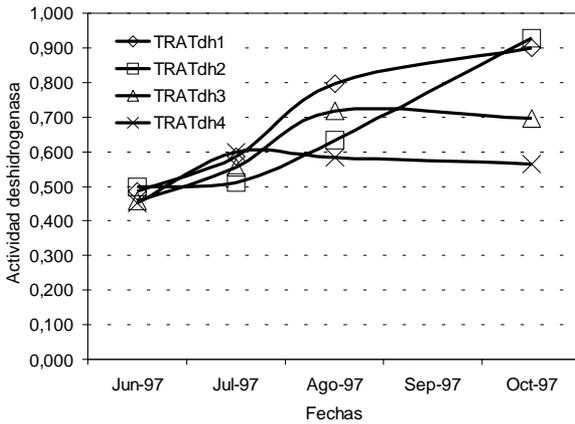


Figura 2. Valores de actividad deshidrogenasa de los diferentes tratamientos de recuperación en pimiento afectado por bajas temperaturas en función del tiempo.

de las bajas temperaturas.

Si se consideran los tratamientos en particular, se observa que las alternativas 3 (S+A) y 4 (S+A+L) en los primeros 30 días evolucionan de manera similar, aunque el tratamiento 4 (S+A+L) manifestó la mayor eficacia durante todo el período de estudio. En cambio, el tratamiento 2 (S) se diferencia de ellos por tener una menor persistencia en el tiempo.

Los tratamientos 3 (S+A) y 4 (S+A+L) fueron los más efectivos, puesto que ejercen su acción con menores valores de actividad deshidrogenasa en el tiempo, lo cual significaría una respuesta de recuperación a la acción de las bajas temperaturas o bien una disminución de su acción, siendo en ambas hipótesis favorables.

Conclusiones

La información obtenida en el presente ensayo muestra que la aplicación de sustancias químicas destinadas a mejorar la recuperación de plantas de pimiento afectadas por bajas temperaturas, resulta promisoria. El tratamiento 4 (S+A+L) manifestó la máxima efectividad asociada al menor daño a nivel de T.I.I. y a una menor actividad deshidrogenasa. Los tratamientos 2 (S) y 3 (S+A) son efectivos, pero en el corto

plazo.

En consecuencia, el agregado de nutrientes minerales, sacarosa y levadura de cerveza (como fuente de aminoácidos), restringen el daño en las membranas celulares y la actividad deshidrogenasa, resultando efectivo en conferir una recuperación o bien atenuar el efecto de las temperaturas de enfriamiento en el cultivo de pimiento Var. Predí F1 en las condiciones descritas anteriormente.

Literatura citada

1. Amado M.E., E.R. Romero., J.A. Rodríguez Rey., S. del C. David y S. Gianfrancisco 1985. Evaluación de la actividad deshidrogenasa a diferentes niveles térmicos en caña de azúcar. XVI Reunión Nacional de Fisiología Vegetal, Argentina p. (Resumen)
2. 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 Nº 85. F.A.Z. - U.N.T.
3. Amado, M.E., J. A. Rodríguez Rey., E. R. Romero., S. Gianfrancisco y S. Del C. David. 1987-Efecto de las bajas temperaturas en la actividad deshidrogenasa de cuatro variedades de caña de azúcar - Rev. Ind. y Agrícola de Tucumán 64 (1): 143-145.
4. Anisko, T. y O.M. Lindstrom. 1995 Applying the Richard's function in freezing tolerance determination with electrolyte and phenolic leakage techniques. *Physiol. Plant.* 95:281-287.
5. Arora, R. y M.E. Wisniewski. 1996 Accumulation of a 60-kD dehydrin protein in peach xylem tissues and its relationship to cold acclimation. *HortScience* 31(6):923-925.
6. Arora, R. y M.E. Wisniewski. 1995 Ultrastructural and protein changes in cell suspension cultures of peach associated with low temperatures induced cold acclimation and ABA treatment. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 40:17-24.
7. Chauvin, L.P., M. Houde y F. Sarhan. 1993 A leaf specific gene stimulated by light during wheat acclimation to low temperature. *Plant Mol. Biol.* 23:255-265.
8. Danyluk, J., M. Houde., E. Rassart and F. Sarhan. 1994 Differential expression of a gene encoding an acid dehydrin in chilling sensitive and freezing tolerance gramineas species. *FEBS Letters* 344: 20 - 24.
9. Dexter, S.T., W. E. Tottingham y L.F. Graber. 1932 Investigations of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity. *Plant Physiol.* 7:63-78.
10. Gil Ortega, R. 1991 El pimiento y sus variedades en España. *Hortofruticultura.* Año III. Edagricole. España. p. 15 - 21.
11. Guy, C.L. 1990 Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 41:187-223.
12. Houde, M., J. Danyluk., J. F. Laliberte., E. Rassart; R. J. Dhindsa y F. Sarhan. 1992 Cloning characterization y expression of a cDNA encoding a 50 Kilodalton protein specifically induced by cold acclimation in wheat. *Plant Physiol.* 99: 1384 - 1387.
13. Iles, J.K. y N. H. Agnew. 1995 Seasonal cold acclimation patterns of *Sedum spectabile* x *telephium* L. "Autumn Joy" y *Sedum spectabile* Boreau "Brilliant". *HortScience* 30 (6): 1221-1224.
14. Isabekov, B.M. y O.A. Krasavtsev. 1989 Osmotic properties of frost resistant protoplasts. *Soviet Plant Physiology* Vol. 36 (2) Part 2: 301-309.
15. Krasnuk, M., G.A. Jung y F.H. Withman. 1976. Electrophoretic studies of several dehydrogenases in relation to cold tolerance of alfalfa. *Cryobiol.* 13:225-242.
16. Olien, C.R. 1974- Energies of freezing and frost desiccation. *Plant Physiol.* 53:764-767.
17. Ouellet, F., M. Houde y F. Sarhan. 1993 Purification, characterization and cDNA cloning of de 200 Kda protein induced by cold acclimation in wheat. *Plant Cell Physiol.* 34 (1): 59 - 65.
18. Palta, J.P. 1977 Freezing injury in onion bulb cells. I. Evaluation of the conductivity method and analysis of ion and sugar efflux from injury cells. *Plant Physiol.* 60: 393-397.
19. Paz, H.A. y J.A. López Hernández. 1973 Aprovechamiento de materia prima, subproductos y desechos de la industria azucarera en la obtención de levadura alimento. *Rev. Agron. N.O. Argentino* 10(3-4): 205-214.

20. Pilatti, R.A. 1997 Cultivo bajo invernaderos. Centro Publicaciones UNL de Hemisferio Sur S.A. 146 p.
21. Rico Avila, J. 1983. Cultivo del pimiento de carne gruesa en invernadero. Publicaciones de Extension Agraria, Corazón de Maria, 8. Madrid.
22. Singh, O. y R.S. Konwar. 1978 Physiological evaluation of sugar cane germplasm for frost resistance. *Int. Sug. J.* 80 (953): 139-141.
23. Steponkus, P.L. 1971 Effect of freezing on deshydrogenase activity and reduction of triphenil tetrazolium chloride. *Cryobiol.* 8:570. 573.
24. Steponkus, P.L. and F.O. Lanphe-ar. 1967 Refinement of the triphenil tetrazolium chloride method on determining cold injury. *Plant Physiol.* 42:1423 .1426.
25. Vornikov, V.K., M.V. Korytov and E.A. Kalacheva. 1989- Low temperature induction of stress protein synthesis in plant. *Soviet Plant Physiol.* 36 (1): 86 – 90.