

CORAZON ACUOSO EN MANZANOS

INTRODUCCION

El corazón acuoso es un serio desorden fisiológico que ha sido reportado en todas las zonas de cultivo del manzano.

Es un desorden interno que generalmente no altera la apariencia externa de la fruta, hasta que ocurre un quiebre severo del tejido. Comúnmente esta pérdida es evaluada por inspección visual de manzanas cortadas en dos mitades, desde una muestra al azar.

El cultivo puede tener serias pérdidas económicas si se detecta corazón acuoso porque podría resultar en una baja completa de la partida de la fruta a comercializar. Por otra parte, si el desorden no se detecta y las manzanas son almacenadas puede ocurrir un pardeamiento interno y una depresión del tejido produciendo un producto invendible.

Aún después de 100 años de estudios, las causas de este desorden fisiológico (corazón acuoso) no han sido bien definidas. Las causas propuestas tienen incluida maduración, temperatura, prácticas culturales (fertilización, riego, poda, etc.), calibre variedad o cultivar, nutrición mineral, alteración morfológica y otros factores.

Este desorden usualmente está asociado con un problema vascular en manzanas, relacionado con el sorbitol, carbohidrato de mayor traslocación en manzanas el cual no puede ingresar a la célula; quedando en los espacios intercelulares, donde el menor potencial osmótico retiene agua.

Como consecuencia, el daño causado por este desorden aparece como un área acuosa y traslúcida. En casos severos, la medula adyacente al corazón y todo el córtex también es afectado. El tejido afectado tiene un elevado contenido de agua, disminuyen los niveles de azúcares reductores y pectinas, aumentan productos anaerobios, hay un mayor contenido de sorbitol que en tejidos normales y en general existe un desequilibrio metabólico con respecto a manzanas normales.

AÑO 1995

Prohibida la reproducción parcial o total de este informe, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia, por registro u otros medios, sin el permiso previo y por escrito del autor.

La intención de este escrito es reunir la última información en cuanto a causas y técnicas de pronóstico de corazón acuoso, además de una pequeña contribución de los autores en forma crítica de lo que se conoce y lo que se podría llegar a realizar para que en un futuro próximo se incentiven los fondos privados para llevar a cabo investigación.

PARAMETROS BIOQUIMICOS EN MANZANAS QUE PRESENTAN CORAZON ACUOSO

– Relación del Sorbitol en la generación de "Corazón Acuoso" (Toledo, S., Jorquera, O., (1995))

El desorden fisiológico llamado corazón acuoso, está íntimamente relacionado con el cambio de potenciales dentro del fruto. Es de conocimiento generalizado, que los frutos que presentan este desorden han sufrido un desequilibrio en el transporte de un carbohidrato conocido como sorbitol, azúcar de mayor traslocación en el fruto. Es importante destacar que la mayoría de los carbohidratos por no decir todos ingresan a la célula para formar parte de una serie de funciones (reserva, estructural, precursores metabólicos, etc.).

Cuando un fruto dañado por corazón acuoso es analizado, se observa que el tejido afectado presenta una mayor concentración de sorbitol en los espacios intercelulares, es decir, se aprecia o se sabe que el carbohidrato no ingresó a la célula (o salió de ella). Este gran flujo de sorbitol que no es ingresado a la célula es un problema que no tiene explicación por el momento.

Como supuestas causas se plantea el manejo inadecuado de la fertilización, poda, riego, etc. Pero el punto no es decir, que debido a una mala práctica cultural, se desata este desorden, el punto está en encontrar y estudiar la ruta bioquímica de este carbohidrato y detectar en qué momento y porqué la célula no es capaz de ingresar este gran flujo de azúcar, quedando el sorbitol en los espacios intercelulares, con lo que el potencial hídrico baja bruscamente en esa zona, lo cual desata un flujo de agua desde la zona de menor potencial a la de mayor, es decir, en otras palabras el agua sale de la célula quedando en los espacios intercelulares con lo cual aparece el típico signo de corazón acuoso, observándose una zona acuosa y traslúcida en torno al corazón de la manzana (haces conductores o red vascular del fruto).

AÑO 1995

Prohibida la reproducción parcial o total de este informe, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia, por registro u otros medios, sin el permiso previo y por escrito del autor.

Son muchos los que intentan encontrar alguna técnica que sea capaz de pronosticar o determinar, la forma de detectar o señalar el grado de daño causado por este desorden.

Es lógico pensar, luego de lo expuesto con anterioridad en este ítem, que una de las formas de pronosticar corazón acuoso, sería midiendo las concentraciones de sorbitol en el fruto. Es así como encontramos, que, en algunas tesis y publicaciones nacionales, una de las formas recurrentes para determinar corazón acuoso consiste en tratar de encontrar alguna relación entre los niveles endógenos de sorbitol en el fruto y el momento de aparición del desorden o el grado de daño relacionado con las concentraciones de este carbohidrato.

En forma general se concluye que los niveles endógenos de sorbitol en el tiempo, no pueden relacionarse en forma directa con la aparición de corazón acuoso, ya que las manzanas sanas, presentan niveles similares (en cuanto a concentración de sorbitol) comparadas con manzanas afectadas. Es lógico pensar esto o anticiparse a estos resultados, ya que si pensamos que el desencadenante de este desorden no son las concentraciones de sorbitol dentro del fruto, si no que una falla en el mecanismo de difusión de este azúcar por lo cual no puede ingresar a la célula y es este el punto crítico del problema, por lo tanto si los estudios o experiencias realizadas, se basan en los niveles de sorbitol dentro del fruto no se podrá determinar nunca el momento o el nivel de daño producido, a menos que se lograra detectar en qué momento, el sorbitol comienza a no ingresar a la célula o se midiera en el tiempo la concentración de sorbitol a nivel intercelular, lo que prácticamente es muy difícil.

Hay que tener claro que los niveles endógenos de sorbitol, en manzanas (enteras) sanas y afectadas es el mismo, lo que cambia es la zona donde se concentra el azúcar.

AÑO 1995

Prohibida la reproducción parcial o total de este informe, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia, por registro u otros medios, sin el permiso previo y por escrito del autor.

1.2.- BIOSINTESIS DEL ETILENO Y ACUMULACION DE POLIAMINAS.

Biosíntesis de etileno y contenido de poliaminas, fueron determinadas en manzanas normales y afectadas. La fruta que presenta corazón acuoso, produce más etileno y contiene altas cantidades de **putrescina, espermidina, ACC** (ácido 1- aminociclopropano - 1 – carboxílico) y **MACC** (ácido 1- (malonilamino) – ciclopropano – 1- carboxílico).

La actividad de ACC sintetasa y la enzima formadora de etileno (EFE) en fruta afectada por corazón acuoso, fue más alta que en la fruta normal.

La actividad de la EFE en pulpa “severamente afectada” fue inhibida, resultando una acumulación de ACC y una baja producción de etileno. **AdoMet** (S- Adenosil metionina), se mantuvo en estado estacionario, aun cuando el etileno y las poliaminas, fueron activamente sintetizadas en frutos normales y afectados.

Se ha encontrado que las manzanas afectadas tienen una alta concentración interna de etileno. El alto contenido de etileno en fruta afectada por corazón acuoso puede ser un resultado del estrés causado por una alta concentración de sorbitol. **El estrés osmótico causado por una alta concentración de sorbitol tiene relación con los niveles de poliaminas.**

La biosíntesis de etileno y poliaminas, usan el mismo sustrato, **AdoMet** y producen el mismo producto, **metiltioadenosina**.

En general el etileno tiene múltiples efectos asociados con senescencia, inicio de madurez, induce pérdida de clorofila en hojas y promueve senescencia. Por el contrario, las poliaminas son inhibidores de la senescencia, ellas inhiben el aumento de **RNAasas, proteasas, peroxidasas**; reduce el periodo de senescencia de protoplastos, induce síntesis de DNA y actividad mitótica, promueve la síntesis de macromoléculas, estabiliza la membrana de los tilacoides, mantiene alto el contenido de las proteínas y previene la pérdida de clorofila en hojas.

AÑO 1995

Prohibida la reproducción parcial o total de este informe, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia, por registro u otros medios, sin el permiso previo y por escrito del autor.

Como el etileno y las poliaminas tienen efectos opuestos, se ha investigado la relación de estos dos tipos de compuestos, en el tejido de manzanas con corazón acuoso para incrementar, el entendimiento de este importante desorden en manzanos.

Después de 12 semanas de almacenaje de la fruta, la actividad de la EFE en pulpa “severamente afectada” por corazón acuoso fue drásticamente inhibida resultando una acumulación de ACC y una baja producción de etileno. El sistema de conversión de ACC a etileno puede ser dañado en pulpa afectada con corazón acuoso en este estado. También la concentración interna de oxígeno en tejido afectado es bajo.

La formación de etileno desde ACC requiere oxígeno. Si el oxígeno es limitante la conversión de ACC a etileno puede ser inhibida y acumular ACC y bajar la producción de etileno. La actividad de la EFE no fue inhibida tanto en epidermis o en pulpa de manzanas con un daño no severo.

CONTENIDO DE POLIAMINAS:

En la epidermis de manzanas afectadas con corazón acuoso, **PUT** (putrescina) y **SPD** (espermidina) se incrementó, mientras **SPM** (espermina) decreció con el tiempo de almacenaje. Pero todos permanecieron más altos que en manzanas normales.

Similares resultados fueron observados en la pulpa. Los niveles de poliaminas fueron generalmente más bajos en la pulpa que en el tejido epidermal. La pulpa afectada contiene niveles más altos de poliaminas, que pulpa no afectada de manzanas con daño suave, pero ambas fueron más altas que en pulpa de fruta normal.

La gran acumulación de poliaminas en tejido con corazón acuoso es inexplicable, pero puede ser esperado por el alto contenido extracelular de sorbitol en manzanas con corazón acuoso. Autores han mostrado que este nivel por sobre lo normal (extracelular) es causado por un estrés osmótico, los cuales vuelven a incrementar los niveles de **PUT** y **SPD** (intracelular).

AÑO 1995

Prohibida la reproducción parcial o total de este informe, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia, por registro u otros medios, sin el permiso previo y por escrito del autor.

CONTENIDO DE AdoMet (S- adenosilmetionina)

Fruta con corazón acuoso, presenta un mayor contenido de **ACC** y poliaminas que los frutos normales. Sin embargo, el nivel de **AdoMet** en epidermis o en la pulpa fue el mismo para ambos tipos de frutos. Estos datos indican que el paso entre metionina y **AdoMet** no es una etapa limitante dentro del ciclo. No hay cambio en el nivel de **AdoMet**, este se observó uniforme mientras que el etileno y las poliaminas fueron activamente sintetizados. **AdoMet** es el sustrato para ambas síntesis (**ACC** y poliaminas), pero esta condición aparentemente no altera el nivel de este sustrato. Similares resultados fueron reportados en hojas de manzanos sometidos a estrés hídrico.

La producción de etileno en manzanas sanas desde mediados de octubre a febrero, indicó que los frutos estaban en estado de preclimacterio al iniciar el ensayo. Con el aumento del tiempo de almacenaje (0°C), las manzanas mostraron un aumento y luego una caída de etileno, asociado con el climacterio. El etileno en la fruta no afectada alcanzó su peak alrededor de las 9 semanas de cosechadas. En contraste en las manzanas que presentaban corazón acuoso, la producción de etileno tuvo su peak alrededor de las 6 semanas postcosecha. La producción total de etileno fue ligeramente más alta en frutas afectadas, que, en frutos normales, pero la tasa de este incremento fue similar para los dos grupos de frutas. El tejido epidermal produjo más etileno en ambos tipos de manzana (dañadas y con daño inicial). En forma análoga, el tejido epidermal produjo más etileno que la pulpa de manzanas normales. La tasa de incremento en la producción de etileno y el tiempo peak, en cada tejido analizado (epidermis, pulpa) fue el mismo que en las manzanas enteras. El peak de producción de etileno en cada tejido afectado ocurrió 6 semanas postcosecha, mientras que, en manzanas normales, el peak fue 9 semanas después de cosechadas. Para cada tejido en manzanas con corazón acuoso se produjo más etileno total, que el correspondiente tejido en fruta normal.

Después de 9 semanas de almacenaje, la producción de etileno declinó con rapidez, especialmente en fruta **severamente dañada**. El anterior peak de etileno indicó que las manzanas, que presentan corazón acuoso están más “aventajadas fisiológicamente” que las manzanas normales.

AÑO 1995

Prohibida la reproducción parcial o total de este informe, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia, por registro u otros medios, sin el permiso previo y por escrito del autor.

El contenido de **ACC**, **ACC sintetasa** y la actividad de la **EFE** de todos los tejidos analizados fueron muy bajas en la cosecha, limitando la producción de etileno. Ha sido reportado que el tejido de fruta en preclimacterio le falta la capacidad no solo para sintetizar **ACC** sino también para la conversión de **ACC** a etileno. La concentración de **MACC** se incrementó en forma paralela con la alta tasa de síntesis de **ACC**. La epidermis contenía más cantidad de **ACC** y **MACC** que la pulpa.

El contenido de **MACC** en epidermis o pulpa fue considerablemente más alto que **ACC** libre. El nivel de **MACC** en todos los tejidos se incrementó durante el almacenaje y no mostró el modelo exhibido por los otros componentes examinados. En general, la actividad seguida por la **EFE** presenta el mismo modelo que la **ACC sintetasa**. La reducción del nivel de **ACC** en tejido normal durante largos periodos de almacenaje (12 a 15 semanas), puede ser esperado por la rápida y estable conversión de **ACC** a etileno, como ha sido reportado por otros autores. El tejido que presenta corazón acuoso contiene más **ACC** y **MACC** que los tejidos normales. La actividad de la **ACC sintetasa** y la **EFE** fue también más alta en manzanas afectadas que en manzanas normales.

Colectivamente los datos presentados aquí indican que la fruta afectada por corazón acuoso contiene altas concentraciones de **PUT**, **SPD**, **ACC**, **MACC** y producen más etileno que la fruta normal. La actividad de la **ACC sintetasa** en fruta afectada fue también más alta que en la fruta normal, esperado probablemente por el estrés osmótico inducido por el “alto contenido” de sorbitol en fruta que presenta corazón acuoso. La **EFE** en pulpa **severamente afectada** por corazón acuoso fue inhibida, posiblemente debido a los bajos niveles internos de oxígeno, que puede resultar en la acumulación de **ACC** y baja producción de etileno. No se observaron cambios en el nivel de **AdoMet** entre fruta afectada y la normal, aunque el etileno y las poliaminas fueron activamente sintetizadas.

1.4.- VARIACION EN LA COMPOSICION DE LIPIDOS.

Los glicolípidos, fosfolípidos y esteroides fueron determinados en manzanas normales y manzanas afectadas con corazón acuoso. Frutos con corazón acuoso contenían altas cantidades de glicolípidos, fosfolípidos y esteroides. Las razones de ácidos grasos insaturados/saturados de (18:3 / 18:1 + 18:2) fueron más bajas en tejidos afectados con corazón acuoso que en tejidos normales. La razón de esteroides libres y fosfolípidos fue alta, mientras que la razón de **fosfatidilcolina v/s fosfatidiletanolamina** fue baja en manzanas afectadas.

AÑO 1995

Prohibida la reproducción parcial o total de este informe, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia, por registro u otros medios, sin el permiso previo y por escrito del autor.

Los lípidos de membrana fueron alterados en fruta con corazón acuoso. Según los datos mostrados en el ensayo anterior, la diferencia entre los valores de fosfolípidos, glicolípidos y esteroides son muy pequeñas. Similares resultados se encontraron entre las razones de los ácidos grasos insaturados/saturados así como la razón de **fosfatidilcolina/fosfatidiletanolamina**.

Lo más probable, es que haya problemas a nivel de proteínas de membrana, ya sea en transportadores de sorbitol que no tengan una regulación metabólica interna o que haya una modificación en la concentración de estos transportadores. También puede ocurrir que el nivel de sorbitol deshidrogenasa (SDH) en el espacio extracelular no tenga el nivel másico suficiente para catalizar la transformación de sorbitol a fructosa, implicando la acumulación de sorbitol en éste y por consiguiente la salida de agua desde la célula hacia el espacio extracelular y la generación de corazón acuoso. (Toledo, S., Jorquera, O., (1995)).

TECNICAS Y PARAMETROS FISICOS Y BIOQUIMICOS PARA LA DETERMINACION DE CORAZON ACUOSO EN MANZANAS.

1.- DETERMINACION VISUAL.

Esta técnica consiste en evaluar el daño de la fruta mediante una inspección visual, realizando un corte longitudinal al fruto y observando en el centro el tejido adyacente al ovario. Esta técnica presenta las siguientes características:

- a) Técnica que solo indica si el fruto presenta o no presenta daño.
- b) No predice
- c) Es una técnica destructiva
- d) Es económica
- e) De fácil realización e interpretación
- f) No establece el nivel de daño en forma estandarizada

AÑO 1995

Prohibida la reproducción parcial o total de este informe, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia, por registro u otros medios, sin el permiso previo y por escrito del autor.

2.- RELACION DE ABSORCION DE RAYOS – X CON LA DENSIDAD Y CONTENIDO DE AGUA EN MANZANAS.

Consiste en usar tomografía computarizada de rayos x para visualizar una región interna del fruto. Se mide un coeficiente de absorción de rayos x, este varía de acuerdo al contenido volumétrico de agua en la sección escaneada del fruto.

Características:

- a) No es destructivo
- b) Mide las características de calidad interna de la fruta asociados con la distribución del contenido volumétrico del agua
- c) Es de elevadísimo costo
- d) Requiere personal altamente calificado
- e) No predice

3.- TRANSMISION DE LUZ EN LA DETECCION DE CORAZON ACUOSO (MAQUINA DE VISION).

Consiste en hacer pasar luz de cierta longitud de onda a través del tejido. El tejido normal debido a la presencia de espacios aéreos causa una intensa dispersión de la luz. La luz dispersada es reducida en la fruta que presenta corazón acuoso, transmitiendo mayor energía. Esta luz transmitida es detectada mediante un sistema de cámaras acopladas a un computador.

Características:

- a) No es destructivo
- b) Alto costo
- c) Puede diferenciar distintas etapas de corazón acuoso
- d) Pierde eficacia a medida que avanza el tiempo de postcosecha
- e) Requiere personal especializado
- f) Este método logra separar correctamente un buen porcentaje de la fruta que presenta corazón acuoso
- g) No predice

AÑO 1995

Prohibida la reproducción parcial o total de este informe, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia, por registro u otros medios, sin el permiso previo y por escrito del autor.

4.- TEST DE FLOTACION (DENSIDAD).

Las manzanas con corazón acuoso presentan una alta densidad específica debido al desplazamiento de aire de los espacios intercelulares. El test de flotación consiste en hacer flotar manzanas en una solución de densidad conocida logrando separar frutos que presentan corazón acuoso de los que no presentan, para esto se han descrito volúmenes o densidades desde un patrón de fruta conocido.

Características:

- a) Este método logra separar correctamente un buen porcentaje de la fruta que presenta corazón acuoso.
- b) No logra discernir el grado de severidad del daño
- c) Presenta como limitación la pequeña diferencia entre densidades de fruta dañada comparada con la sana
- d) Bajo costo
- e) No predice

5.- DETERMINACION DE ETILENO.

Se puede determinar por cromatografía gaseosa con columna de alúmina y acoplado con detector de ionización de llama.

Características:

- a) De moderado costo
- b) Necesita de personal calificado
- c) Es destructivo (necesita pequeñas cantidades de tejido)
- d) Nos permite anticipar el posible desorden**

AÑO 1995

Prohibida la reproducción parcial o total de este informe, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia, por registro u otros medios, sin el permiso previo y por escrito del autor.

6.- DETERMINACION DE POLIAMINAS (HPLC, COLORIMETRICA).

Esta técnica utiliza cromatografía líquida de alta presión (HPLC). Otra forma es mediante una reacción bioquímica entre las poliaminas y una enzima específica, dando un producto coloreado.

Características:

- a) Costo moderado
- b) Destructiva
- c) Personal especializado
- d) **Permite anticipar el posible daño**

COMENTARIOS FINALES:

- 1.- Aún falta mucho tiempo y dedicación para establecer las verdaderas causas de este desorden
- 2.- Existen evidencias de técnicas y parámetros bioquímicos que podrían llegar a estimar y predecir este desorden
- 3.- Las empresas y universidades deben adoptar nuevas tecnologías que permitan llegar con un producto de alta calidad a los mercados más exigentes
- 4.- Existen alternativas de bajo costo o moderado costo factibles de incorporar o adaptar a los medios nacionales.

AÑO 1995

Prohibida la reproducción parcial o total de este informe, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia, por registro u otros medios, sin el permiso previo y por escrito del autor.

BIBLIOGRAFIA

- **Shiow, y. , Wang and Miklos Faust, (1992),** “ Variation in lipid composition of apples in relation to watercore “ , *J. Amer. Soc. Hort. Sci, 117 (5), 829-833.*
- **Shiow, y. , Wang and Miklos Faust, (1992),** “ Ethylene biosynthesis and polyamine accumulation in apples with watercore “ , *J. Amer. Soc. Hort. Sci, 117 (1), 133-138.*
- **Throop, J.A., Aneshansley, D.J., Upchurch, B.L., (1994),** “ Camera system effects on detecting watercore in Red delicious apples “ , *ASAE, 37 (3), 873-877.*
- **Tollner, E.W., Hung, Y.C., Upchurch, B.L., Prussia, S.E., (1992),** “ Relation x-ray absorption to density and water content in apples “ , *ASAE, 35 (6), 1921-1928.*
- **Upchurch; B.L., Throop, J.A., (1994),** “ Effects of storage duration on detecting watercore in apples using machine vision “ , *ASAE, 37 (2), 483-486.*
- **Conn,E.E., and Stumpf , P.K.,** “ outlines of biochemistry 5/E “ , John Wiley & Sons, 5^a Ed., (1987), 693 pg.

SERGIO ANTONIO TOLEDO VIVAS
INGENIERO AGRÓNOMO
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

ORLANDO JORQUERA CORTES
BIOQUÍMICO
UNIVERSIDAD DE CHILE

AÑO 1995

Prohibida la reproducción parcial o total de este informe, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia, por registro u otros medios, sin el permiso previo y por escrito del autor.