

ALGUNOS ESTUDIOS SOBRE EL CORCHO DE LAS MANZANAS

por el Dr. W. FEUCHT y C. VALDÉS

De la Escuela de Agronomía de la Universidad de Chile

Es sabido que las manzanas que se compran en el mercado están a veces en mal estado. Aparecen bajo la piel tejidos oscuros: el corcho. En consecuencia, la pulpa de las manzanas se ve gravemente afectada, y además pierde jugo y sabor. En general, la enfermedad aumenta en forma rápida 1 o 2 meses después de la cosecha, estimulada gravemente por las malas condiciones de almacenaje. Estas últimas son, temperaturas demasiado altas, poca o mucha humedad, atmósfera mala del almacén, es decir, muchos compuestos volátiles de las frutas que por su parte aceleran la enfermedad del corcho.

Los fruticultores como los científicos, están igualmente interesados en esta enfermedad, que existe en todo el mundo donde se cultiva el manzano y lamentablemente también en Chile. Ahora se piensa, según los resultados de los experimentos hechos, que se trata de una enfermedad nutricional (era también una hipótesis, que se trataba de un tipo de virus; pero, según CAMPBELL y LUCKWILL (1962), esta hipótesis hay que rechazarla). En el año 1936, DELONG estableció que la enfermedad está relacionada con una deficiencia mineral, a saber, de calcio. Pero a partir de aquí, pasó mucho tiempo, hasta que este resultado ganara un interés justificado. En 1956, GARMAN y MATHIS empezaron de nuevo con amplios experimentos sobre los minerales y encontraron de importancia las relaciones entre calcio, magnesio y potasio. A base de éstas, MARTIN, LEWIS y CERNY (1960) alcanzaron, con pulverizaciones con nitrato de calcio, una reducción del corcho, y con nitrato de magnesio un aumento. Es posible que el Mg actúe de modo contrario al calcio. Lo mismo ocurre a veces con el potasio (VAN STUIVENBERG y POWWER, 1950, ASKEW et al., 1960). Es así comprensible, que SMOCK, FISHER y FORSHY (1962) obtuvieran de 14 tratamientos 5 con éxito, pulverizando nitrato de calcio. Se deduce de estos ensayos que el calcio no sólo actúa en relación a la enfermedad. Por otra parte, JACKSON (1962), así como RAPHAEL y RICHARDS (1962), obtuvieron resultados positivos con el mismo pulverizante.

A base de estos resultados, nosotros hicimos también ensayos para buscar los minerales deficientes en las manzanas enfermas de Chile. Como método sirve la cromatografía, porque las manzanas contienen muy pocos minerales. La separación e identificación de los



Fig. 1. Manzana afectada por el corcho con tejidos oscuros bajo la piel

minerales sucede solamente mediante la cromatografía y por eso hay pocas posibilidades de error.

La mancha más grande de la figura 2 corresponde al magnesio de las manzanas con corcho. La relación al magnesio de las manzanas sanas es más o menos 2 : 1. Las manchas inferiores del calcio son más o menos iguales. Estos valores se refieren al peso seco de las manzanas. La figura demuestra que la relación Mg/Ca en el tejido con corcho es mucho más grande que en el tejido sano. Esto significa un contenido relativamente alto de Mg y relativamente bajo de Ca en las manzanas enfermas.

A pesar de estos resultados, no se puede simplificar el problema. El Ca y el Mg no actúan como elementos independientes. Por ejemplo, el K también influye en la absorción de Ca y Mg. Verdad es que el Mg es también bivalente, compite con el Ca por los "carrier systems" para entrar en las raíces y llegar a los centros importantes del metabolismo, las mitochondrias, núcleos y microsomas.

OBERLY y KENWORTHY (1961) dan un informe más amplio sobre relaciones minerales entre tejidos sanos y

en corcho. Con más B, K, en las hojas y más B, K, P, en las frutas, aumenta el corcho. Por otro lado, con más Mg, Mn en las hojas y más Mg, Ca en las frutas había menos corcho.

Surte que los resultados de varios autores son contradictorios. Por ejemplo, respecto al Mg (OBERLY y ENWORTH, 1961; OBERLY, 1959; BUENEMANN, 1959), respecto al boro (MULDER, 1951; THOMPSON y ROGERS, 1961 y otros), o en lo que se refiere al N (ASKEW et al., 1960; SCHUHMACHER, 1963; BUENEMANN, 1961).

Son muy probablemente dichos ensayos no fueron mal realizados, sino que corresponden al hecho de que los árboles se presentan cada año, en cada país y en cada cultivo en un estado diferente. Y como hemos dicho, el corcho está relacionado con las diversas condiciones de suelo y clima en una forma compleja.

Además, también tienen influencia los elementos menores a la absorción del calcio o del magnesio. Según GRIMMET (1946), existe un sinergismo de molibdeno-calcio, que constituye una interacción positiva. En un suelo ácido también se observa la interacción cal-molibdeno aumentada, también la absorción de K. El molibdeno, por su parte, juega un papel importante en la reducción del nitrato y su ocupación o no por otros procesos puede influir bastante en el desarrollo de los árboles, sobre todo cuando el abono nitrogenado es exclusivamente el alítre.

Es bien conocida la hipótesis —aunque no sin contradicción— de que el nitrógeno aumenta el corcho. Por ejemplo, las manzanas más grandes, es decir, que tuvieron un crecimiento forzado, son más propensas al corcho (SMOCK, FISHER, FORSHEY, 1962). LETHAM (1961) estudió los efectos del abono nitrogenado en las manzanas. Las células aumentan —respecto al mismo peso— su tamaño con más N, y el autor citado supone que el nitrógeno acelera la rapidez de la división de las células y estimula la propensión en el "internal breakdown".

Probablemente, no es por casualidad que WILKINSON y PERRING (1961) encontraron que las manzanas más grandes tienen un contenido menor de calcio. Hay varias relaciones importantes entre la división de las células, su crecimiento y el calcio. Lo último facilita la formación de complejos estables (BURSTROEM y TULLIN, 1957). El calcio estimula considerablemente la elongación de las células (BURSTROEM, 1954). Teóricamente, sería concebible que un desequilibrio entre N y Ca en favor del N influya en la dicha enfermedad.

Por eso encontramos oportuno comparar también el contenido de N en las manzanas enfermas y sanas. Además, prestamos mucha atención a fin de coger el estado del comienzo de la enfermedad como el momento más importante respecto a la causa de dicha enfermedad. Todos los cambios de minerales dentro de las

manzanas durante la cosecha o en el frigorífico podrían ser de tipo secundario. Según ESAU, JOSLYN y CLAYPOOL (1962), hay cambios de minerales mientras avanza la maduración de las peras. De acuerdo con esto, THOMPSON y ROGERS (1961) tenían éxito sólo con pulverizaciones de boro, en el período de floración o poco más tarde.

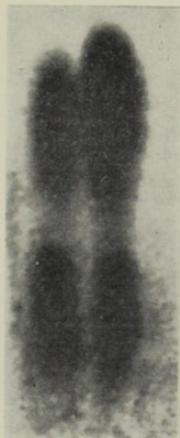


Fig 2 Cromatograma de papel mostrando las manchas de calcio y magnesio de las manzanas enfermas (derecha) y sanas (izquierda). Variedad, Delicioso regular. Fecha del tratamiento, julio de 1964. Solvente, Acetona/HCl/H₂O. Reactivo de coloración, Oxina/Ácido Koji y amoníaco (uv-fotografía). Ubicación de calcio, R_f 0,55. Ubicación de magnesio, R_f 0,65 (la fotografía muestra sólo una parte del cromatograma)

En base a esto recogimos, en los meses de diciembre y febrero, las pequeñas manzanas de los árboles de un huerto afectado con corcho (zona de Curicó). Los primeros compuestos orgánicos del nitrógeno en la planta son los aminoácidos. Ellos entran en las manzanas por las hojas o directamente por las raíces como compuestos transportables. Es de interés conocer los aminoácidos, cuantitativa y cualitativamente. Un contenido mayor o menor en el tejido con corcho no indica necesariamente un proceso malo. Es la razón por la cual no conviene trabajar con el método de Kjeldahl para determinar el N en forma cuantitativa. Comparado con éste la cromatografía nos lleva a conclusiones más profundas sobre el metabolismo de nitrógeno. Separando los compuestos nitrogenados con la cromatografía de capa fina, alcanzamos a fijar las amidas específicas que se aumentan con un real exceso de nitrógeno, a saber, la glutamina y la asparagina (MOTHES, 1958).

Reproducimos aquí cromatografías de capa fina, según STAHL (1960) y la separación de aminoácidos y amidas según BRENNER y NIEDERWIESER (1962). Por medio de

la dinitrofenilización se alcanza la purificación de aminoácidos de los compuestos molestantes y al fin se aplica la separación en dos dimensiones (figs. 3, 4 y 5). Los aminoácidos y amidas tienen los números siguientes: Alanina (1), asparagina/glutamina (2), ácido aspártico (3), ácido glutámico (4), glycina (5), leucina (6), serina (7), fenilalanina (8), metionina (dudoso) (x), threonina (10), valina (11), DNP-OH (12), DNP-NH₂ (13).

Comparando las figuras 3 y 4 se ve que las amidas asparagina y glutamina se acumulan en el tejido con los primeros estados del corcho. Además, está en mayores cantidades el ácido glutámico que la alanina, los cuales en general son los primeros aminoácidos dependientes de los cetoácidos del ciclo de KREBS. Esto demuestra que hay en el tejido enfermo muchos grupos NH₂, es decir, un alto nivel de nitrógeno. También se aumenta en las células enfermas la serina, que por un lado está relacionada con el metabolismo de azúcares y por otro con la síntesis de ácidos nucleicos. Lo último tendría algo que ver con el esforzado metabolismo de proteínas en las células. Los aminoácidos de más están, en general, también en mayores cantidades en las manzanas con corcho.

Por eso es de importancia que sobre todo en las dos amidas exista un desequilibrio más grande, a saber, 2,4 : 1 en favor del corcho (FEUCHT y VALDÉS, 1964). Esto revela una real tendencia al sobrecargo de las células con los grupos NH₂, los cuales podrían ser venenosos en grandes cantidades (MOTHES, 1958). Comparado con esto los aminoácidos neutrales y ácidos tienen las relaciones 1,7 : 1 en favor al corcho.

La acumulación de los compuestos solubles nitrogenados podría tener relación con un crecimiento esforzado de los tejidos, como ya se ha dicho arriba. Según REINHOLD y POWELL (1957), la presencia de heteroauxin estimula la acumulación de ácido glutámico, y LETHAM (1961), encontró en las manzanas, después de la aplicación de kinetina, un aumento de la asparagina. Finalmente, hay que tener en cuenta que la acumulación de dichos compuestos está condicionada frecuentemente por una inhibición del metabolismo de proteínas, por ejemplo, por deficiencia de K y P. Por eso hicimos otro ensayo para determinar las cantidades de proteínas en los tejidos sanos y enfermos. La relación fue 1,9 : 1 en favor de los manzanos con corcho (FEUCHT y VALDÉS, 1964). Esto indica que, en los tejidos enfermos, el metabolismo de las proteínas de ninguna manera está detenido.

Las figuras 6 y 7 muestran cromatogramas de capa fina con las proteínas hidrolizadas. Los cromatogramas están hechos según los anteriores de las figs. 3 y 4.

En comparación con las figuras 3 y 4, faltan ahora las



Fig. 3 Cromatografía de capa fina mostrando los aminoácidos y amidas de manzanas sanas (uv-fotografía) Solvente I y II según BRENNER y NIEDERWIESER (1960)



Fig. 4 Cromatografía según figura 3; manzanas con corcho

midas por causa de hidrolización. Como compuestos adicionales aparecen prolina al lado de alanina, hydroxyprolina al lado de serina y tyrosina/lysina en la dirección vertical sobre alanina. Leucina está muy cerca de DNP-OH.

Las figs. 6 y 7 muestran la mayor cantidad de proteínas en el tejido con corcho. Cualitativamente hay pocas diferencias entre las dos muestras. Atención merecida el ácido hydroxyprolina que aparece en las proteínas. Según CLELAND (1963), este compuesto constituye un elemento de las proteínas de las paredes celulares.

El alto nivel de proteínas relacionado con el corcho, hace pensar que las células, alcanzando un nivel saturado de concentración, entran a formar enzimas (DRAVERT, 1963), que al mismo tiempo significan un distinto estado de madurez. Por lo menos un grupo de estas enzimas estimula la respiración. BURRIS (1959) afirma la relación directa entre el nitrógeno y la respiración. La respiración forzada corresponde a un metabolismo acelerado, que en las manzanas produce en general una madurez precoz. MARTIN y CERNY (1954) como FEUCHT y VALDÉS (1964) encontraron una respiración estimulada en los tejidos con corcho. Es bien concebible que en el ciclo de KREBS los cetoácidos al salir para la síntesis de aminoácidos, deban ser reemplazados por otros ácidos orgánicos. FEUCHT y VALDÉS (1964) encontraron las mismas cantidades de cetoácidos en los tejidos sanos y enfermos, a pesar del mayor consumo en los últimos. Esto exige una mayor transformación de hidratos de carbono en compuestos asimilables por el ciclo de KREBS y finalmente una mayor respiración. Con iguales cantidades de cetoácidos en los dos grupos de manzanas, se puede también excluir la posibilidad que las amidas aumenten por falta de ácido acético oxálico y alfa-cetoácido glutárico.

Hasta ahora hemos discutido sobre las relaciones del calcio con el corcho, y además sobre la influencia del nitrógeno en dicha enfermedad. Pero la pregunta no sólo es acerca de cuál de los dos causa el mal. Podría ser también que los dos juntos estén relacionados con el proceso del corcho.

La enzima, las más veces responsable por la formación de glutamina, es estimulada por el magnesio, y con menor importancia por el manganeso (ELLIOT, 1953). El Mg en un nivel absolutamente alto o —por falta de Ca— relativamente alto, puede entonces estimular el metabolismo nitrogenado. En este caso, es de interés referir también que FORSHEY (1959) encontró un synergismo entre la absorción de nitrógeno y de magnesio por los órganos anuales del manzano. Según MOTHES (1958), el calcio inhibe la síntesis de glutamina, probablemente como antagonista de Mg y Mn. A partir de la glutamina, el proceso siguiente es conocido. Se forma ácido glutámico (VIRTANEN, 1961), que constitu-

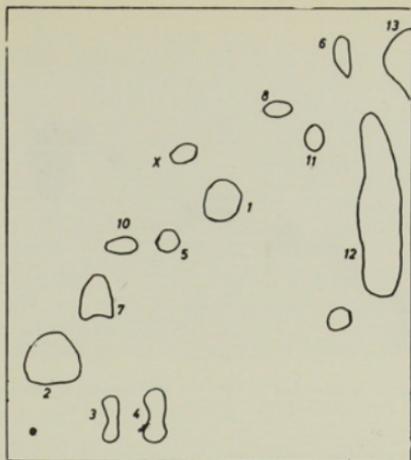


Fig. 5. Figura esquemática para identificar las manchas de las figuras 3 y 4

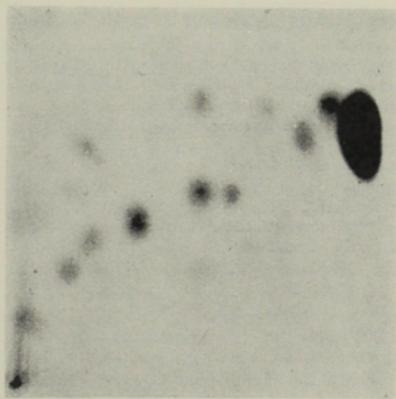


Fig. 6. Cromatograma de capa fina mostrando los aminoácidos de proteínas hidrolizadas (tejido sano de 12,2-64)

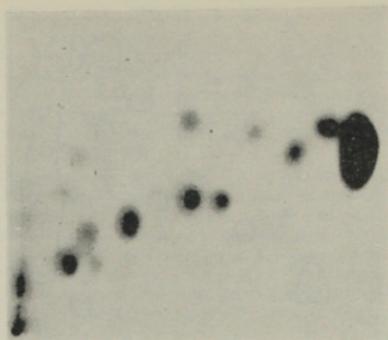


Fig. 7. Cromatograma de capa fina mostrando los aminoácidos de proteínas hidrolizadas (tejido enfermo de 12.2.64)

ye una base central para la formación de los otros aminoácidos.

Un nivel relativamente o absolutamente menor de calcio podría traer otras consecuencias. Este mineral tiene algo que ver con la firmeza estructural de las paredes celulares. Hay quelatos de calcio con proteínas en dichas paredes (GINZBURG, 1961) y también quelatos con pectinias (BUCHLOH, 1960), que juegan un papel en la cohesión de las células. Según MARINOS (1962), que hizo estudios con un ultramicroscopio, la deficiencia de calcio produce una autólisis del sistema de doble membrana endoplasmática, es decir, una desorganización de las membranas citoplasmáticas, cuerpos golgi, mitocondrias y membranas nucleares. BUSSLER (1962) afirma la autólisis de las células y destaca la importancia del nivel relativo de calcio entre los jones en total. Según él, independiente del contenido de cal absoluto, se produce una deficiencia si del total de los jones hay menos de un 20% de Ca. También vale mencionar que el calcio posee la facilidad de suspender un efecto de crecimiento de varios D, L-aminoácidos (NURMIKKO y KAERHAE, 1963). En el fondo, ciertamente hay posibilidades de que el calcio actúe en forma contraria a los procesos que afectan al corcho.

Al explicar más ampliamente las relaciones de calcio magnesio y nitrógeno con el corcho, nos basamos en que hasta ahora tenemos resultados de manzanas chilenas sobre los dos elementos. Sin embargo, no crecenc de importancia otros minerales que pueden influir por lo menos en los dos mencionados. Aquí hay que nombrar K, B y Mn.

Además, existe otra posibilidad como causa de la en-

fermedad, según el destacado investigador SMOCK (1941). Su teoría se refiere a la transpiración del árbol, o sea, al cambio en el contenido de agua dentro de las frutas. Existe una competencia entre las hojas y las frutas, a causa de lo cual las últimas pierden una parte de su agua. Según STENZ (1958), con una humedad de 95% en el aire, una manzana pierde un poco de su peso en la tarde a causa de la transpiración. En Chile la humedad baja mucho más, hasta 40%, y es bien claro que los cambios del turgor de las células entre la tarde y la noche son grandes. El cambio del turgor tiene como consecuencia cambios en las concentraciones de minerales y de fisiología en general, que permite la hipótesis de SMOCK (1941)

Resumen

El corcho, hipotéticamente, una enfermedad nutricional, debe ser reducido por mejoramiento del abono. Como ya se ha explicado, las interacciones entre los minerales o entre los minerales y compuestos orgánicos son numerosos.

Los niveles óptimos de varios minerales sólo los ofrece un suelo con bastante materia orgánica. La materia orgánica tiene la facilidad de absorber, almacenar y permutar a la planta los jones en forma óptima. Los suelos de Chile Central tienen frecuentemente poca materia orgánica. A raíz de esto se produce una reducción de la fecundidad, acelerada por períodos secos, insolación fuerte, aballo de la formación estructural hasta el estado de polvo, erosión, reducción de la descomposición de minerales, sobre todo de potasio (KUBIENA, 1962). A base de un suelo con bastante materia orgánica, la nutrición de los manzanos será más armónica. Las raíces tendrían la posibilidad de elegir los minerales necesarios, ofrecidos por los complejos de absorción del suelo. Así el árbol alcanza un equilibrio óptimo de minerales. Lo último ayuda mucho a producir manzanas sanas respecto de la nutrición.

BIBLIOGRAFIA:

- ASKEV, H. O., CHITTENDEN, E. T. et al., 1960: New Zealand Agr. Res. 3.
- BUCHLOH, G., 1960: Der Erwerbsobstbau, 2, H. 12.
- BUENEMANN, G., 1959: Gartenbauwiss., 24, 6.
- BUENEMANN, G., zit por DERMINE, 1961: Bull. Inst. Agron. Sést. Res. GEMELOUX III.
- BRENNER et al., 1961: Esperientia, 17.
- BURRIS, R. H.: 1959: Ann. Plant Rev., 1^a.
- BURSTROM, H. und TULLIN, V., 1957: Physiol. Plantarum, 1^a.
- BUSSLER, W., 1963: Z. Pfl. Erd. 100/99.

AMPBELL, A. L. and LUCKWILL, L. C., 1962: *Journ. Hort. Sci.*, 37.

LELAND, R., 1963: *Plant Physiol.*, 38.

ELONG, W. A., 1936: *Plant Physiol.* 11.

RAWERT, F., 1963: *Vitís*, 4.

LIOT, W. H., 1953: *Journ. Biol. Chem.*, 201.

BEAU, P. et al., 1962: *Journ. Food Sci.*, 27.

LUCHT, W. y VALDÉS, C., 1964: *Mitt. Obst und Garten, Austria*.

ORSHEY, C. G., 1963: *Am. Soc. Hort. Sci.*, 83.

ARMAN, P., and MATHIS, W. T., 1956: *Conn. Agr. Exp. Sta. Bull.*, 601.

HIMMET, H., 1946: *New Zealand Journ. Agron.*, 73.

ENZBERG, 1961: *Explod. Bot.*, 12.

CKSON, D. I., 1962: *New Zealand Journ. agric. Res.*, 5.

UBENA, W., 1962: *Intern. Kali Inst. Betr.*

ETHAM, D. S., 1961: *Austr. J. agric. Res.*, 12.

MARTIN, D. and LEWIS, T. L., 1954: *Austr. J. Res. agric.*, 5.

MARTIN et al., 1960: *Austr. Journ. agric. Res.*, 11.

MARTINOS, N. G., 1962: *Amer. J. Bot.*, 49.

MOTHES, K., 1958: *Handbuch d. Pfl. physiol.*, Springer Verl.

MULDER, D., 1951: *Med. Dir. Tuinb.*, 14.

NURMIKKO, V. and KAERHAE, E., 1963: *Ann. Acad. Sci. fena A. II*, 114.

OBERLY, G. H., 1959: *Di. Mich. Stat. Uni.*

OBERLY, G. H. and KENWORTHY, A. L., 1961: *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, 77.

RAPHAEL, I. D. and RICHARDS, R. R., 1962: *Tasm. Journ. Agric.*, 6.

REINHOLD, L. and POWELL, H. G., 1957: *Ref. Landw. Zentrabl. Abt. II*.

SCHUHMACHER, R., 1963: *Schweiz. Zeit., Obst und Weinbau*, 72.

SMOCK, R. B., 1941: *Corn. Uni. Agr. Exp. Sta. Mem.*, 234.

SMOCK, R. B. et al., 1962: *Proc. Ann. Meet. New York State Hort. Sci.*

STAHL, E., 1962: *Dünnschichtchromatographie*.

STENZ, S., 1938: *Diss. Leipzig Uni.*

STUYVENBERG var I. en POUWER, A., 1950: *Med. Dir. Tuinb.*, 13.

THOMPSON, A. H. and ROGERS, B. L., 1961: *State Uni. N. Brudswick*.

VIRTANEN, A. J., 1961: *Ann. Rev. Plant Phys.*, 12.

WILKINSON, B. G. and PERRINO, M. A., 1961: *J. Sci. Food Agric.*, 12.

NUEVOS DESCUBRIMIENTOS EN FÍSICA NUCLEAR EN LA URSS

Más de 300 hombres de ciencias de 22 países discuyeron en el centro soviético de investigación nuclear de Dubna —cerca de Moscú— nuevos descubrimientos en la esfera de la física nuclear, sobre todo en lo que se refiere a la construcción y utilización de aceleradores de partículas de alta energía. El Presidente del Comité Internacional de Termodinámica y Kinética Electroquímica, prof. Fischer, de la Universidad Técnica de Karlsruhe, en Alemania Occidental, declaró que lo logrado por los sabios soviéticos en esta esfera científica debería ser más estudiado en Occidente.

Durante la semana de duración del Congreso se dedicó la máxima atención al problema de las células químicas combustibles, que, ya desarrolladas en el laboratorio, han trabajado sin perturbaciones durante varios meses. No están aún en condiciones de ser suministradas a la industria, sin embargo.

Sobre el nuevo superacelerador que construye la Unión soviética se comunica que, desde luego, se trata del más potente del mundo. Instalado a una distancia aproximada de 75 kilómetros de Moscú, estará listo dentro de unos dos años. El magneto pesa 36.000 toneladas y tiene un diámetro de casi 60 metros. Final-

mente se comunica que en los laboratorios de Dubna se ha logrado un nuevo y transcendental descubrimiento.

SUPERPENICILINA SOVIETICA

Por medio de un encadenamiento de polímeros (combinación de moléculas gigantes) un científico ruso ha conseguido prolongar considerablemente el efecto de los medicamentos. Según estas noticias el efecto de una inyección de penicilina tendrá una duración de 30 a 40 veces mayor que la actual. El efecto de remedios contra la coagulación y la tuberculosis se mantuvo por un espacio de 15 a 20 veces mayor. Los nuevos remedios combinados podrían estar a disposición de los médicos dentro de un año a año y medio.

Al inventor de la nueva combinación de medicamentos, profesor Sergio Uschakov, le sugirieron su idea experiencias de la propia enfermedad. Este sabio, que es él mismo experto en la especialidad de química macromolecular, yacía en un hospital con infarto cardíaco y esclerosis y las constantes inyecciones le hacían sufrir en forma insostenible. Una vez curado se dio a cavilar si no podría encontrarse en la esfera de su especialidad el modo de prolongar el efecto de los medicamentos a fin de disminuir el número de inyecciones. Resultado de su esfuerzo son 15 nuevos medicamentos probados con éxitos en 12 clínicas de Leningrado, Moscú y Kiev.