

## ACUMULACIÓN DE COMPUESTOS NITROGENADOS EN RELACIÓN AL PROBLEMA DE BAYA BLANDA EN UVA DE MESA

### Accumulation of nitrogen compounds as related to the “soft berry” problem in table grapes.

Rafael Ruiz S.<sup>1\*</sup>, Stella Moyano A.<sup>1</sup> y Tania Navia P.<sup>1</sup>

#### ABSTRACT

With the objective of evaluating a probable association between N metabolic disorders and the problem known as “soft berry” at the beginning of 2002 rachis and berries of bunches from a vineyard, *Vitis vinifera* L. cv. Thompson Seedless, of the VI Region, Chile (34°15' S. lat, 72°25' W. long) with the presence of “soft”, “intermediate”, and “firm” berries were collected. The results indicated that soft or intermediate berries had higher levels of N in the pulp and skin, and higher arginine and putrescine levels in berries and rachis. Evaluations of the fruit indicated that soft berries showed less firmness, less than 190 g-strength mm<sup>-1</sup>, less weight and less soluble solids (°Brix). The results indicated some similarity with factors that have been associated to the disorder known as “bunch stem necrosis” or “waterberry”.

**Key words:** putrescine, physiological disorders, nitrogen, arginine, berry firmness, *Vitis vinifera*, bunch stem necrosis.

#### RESUMEN

Con el objeto de evaluar la probable incidencia de trastornos del metabolismo del N en el problema denominado “baya blanda” de la vid, a inicio de la cosecha 2002 se recolectaron muestras de bayas y raquis de racimos procedentes de un parronal *Vitis vinifera* L. cv. Thompson Seedless de la VI Región, Chile (34°15' lat. Sur, 72°25' long. Oeste) con presencia de bayas “blandas”, “intermedias” y “firmes”. Los análisis indicaron que las bayas incluidas en las categorías blanda y/o intermedia presentaron una concentración mayor de N en la pulpa y en la piel, mayores niveles de arginina y de putrescina. Evaluaciones en la fruta indicaron que las bayas blandas presentaron además menor firmeza (menos de 190 g-fuerza mm<sup>-1</sup>), menor peso y menor concentración de sólidos solubles (°Brix). Los resultados indicaron una similitud con los factores que se han asociado al trastorno conocido como “palo negro”.

**Palabras clave:** putrescina, desórdenes fisiológicos, nitrógeno, arginina, firmeza de bayas, *Vitis vinifera*, palo negro.

---

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación La Platina, Casilla 439/3, Santiago, Chile.  
E-mail: rruiz@platina.inia.cl \*Autor para correspondencia: smoyano@platina.inia.cl tnavia@platina.inia.cl  
Recibido: 25 de julio de 2003. Aceptado: 10 de diciembre de 2003.

## INTRODUCCIÓN

La uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) es el principal rubro de la exportación frutícola chilena, siendo el cultivar Thompson Seedless el de mayor importancia, del cual existen alrededor de 21.000 ha (ODEPA, 2002). La necesidad de consolidar o aumentar mercados obliga a tener una preocupación constante por mejorar la calidad del producto. Los requerimientos de calidad, ya sea impuestos por las exigencias del mercado o por los propios exportadores chilenos, han aumentado, no siendo suficiente con ajustarse a los requerimientos usuales de calidad, como calibre de bayas, peso del racimo, madurez y sanidad, sino que ha surgido un nuevo requerimiento que se refiere a la firmeza de las bayas. De acuerdo a esto, un racimo que presenta bayas firmes o crocantes tiene una connotación muy distinta a otro que cumpliendo todos los requisitos presenta bayas blandas (Zoffoli y Rodríguez, 2000). De acuerdo a la opinión de las exportadoras, el problema de “baya blanda” se presenta principalmente en el cv. Thompson Seedless, pero existe también en otras variedades como Red Globe (Del Solar *et al.*, 2000).

En el ambiente técnico el problema de “baya blanda” es conocido desde hace mucho tiempo, aunque no se identificó claramente desde un principio por su semejanza con el problema conocido como “palo negro” o desecamiento del escobajo. Actualmente es posible diferenciar ambos trastornos; en el caso de “baya blanda” no existe necrosis del escobajo ni puntos necróticos en el pedicelo, claramente identificatorios del “palo negro” (Vieira, 1973; Gacitúa, 1985). Por otra parte, en el caso de “palo negro” la baya permanece ácida, a nivel no palatable (Morrison y Iodi, 1990), mientras que en el caso de “baya blanda” los racimos alcanzan los niveles requeridos para la exportación aunque lentamente. Al igual que en el caso del “palo negro”, este desorden es de ocurrencia errática, su intensidad varía de un ambiente a otro, de un parronal a otro y de un año a otro, lo que dificulta el estudio de los agentes causales.

Existe un número creciente de investigaciones que vinculan el fenómeno de “palo negro” y otros desórdenes que implican necrosis en diferentes tejidos de la vid, con anomalías del metabolismo nitrogenado (Silva *et al.*, 1986, Jordan *et al.*, 1991; Ibacache *et al.*, 1991, Christensen *et al.*, 1991) o a las acumulaciones de putrescina (Ruiz y Moyano, 1998).

Las putrescina es una poliamina presente normalmente en los tejidos vegetales en muy baja concentración. Sin embargo, un incremento de la misma produce desequilibrios iónicos a nivel de la membrana celular y necrosis del tejido (Di Tomasso *et al.*, 1989). Un estudio detallado eligiendo racimos afectados de “palo negro” en los sectores terminales, pero con sectores basales e intermedios aparentemente sanos, indicó un incremento exponencial de la concentración de putrescina en el sector afectado respecto al sano. El sector intermedio, sin signos de necrosis en el raquis pero con bayas de menor turgencia, indicó incrementos de putrescina por lo que se ha pensado en una relación causa-efecto entre ellos (Ruiz y Moyano, 1998).

El objetivo del presente trabajo fue determinar si existe una conexión entre el problema de “baya blanda” y la acumulación de metabolitos nitrogenados eventualmente tóxicos. En el presente trabajo se dan a conocer resultados de una temporada (2001-2002) en la cual se compararon racimos con “baya blanda” respecto de racimos normales, en cuanto a la composición de diferentes componentes nitrogenados, incluida putrescina, en bayas y raquis.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestreo

La metodología consistió básicamente en el muestreo y análisis de racimos con/sin el problema de baya blanda, estableciéndose además una categoría intermedia.

Los muestreos se realizaron en un parronal cv. Thompson Seedless de 8 años de edad, regado por surcos, ubicado en la localidad de Las Cabras, VI Región (34°15' lat. Sur, 72°25' long. Oeste). El

suelo corresponde a un mollisol (Serie Pataguas) de textura franco arcillosa en superficie y arcillosa en profundidad. El cuartel seleccionado para los muestreos presentaba antecedentes anteriores de problemas de baya blanda. El manejo fue el convencional para la variedad, podándose las plantas en base a 15 cargadores de 12 yemas. El raleo de racimos contempló dejar alrededor de 45 racimos por planta, con rendimientos finales de 20 t ha<sup>-1</sup>. La fertilización consistió en la aplicación de 150 kg ha<sup>-1</sup> de N como urea, parcializada entre primavera (octubre) y postcosecha (marzo).

Una semana antes del inicio de la cosecha comercial del cuartel (15 febrero) se identificaron plantas portadoras de racimos en tres condiciones, de acuerdo a la sensación al tacto: bayas firmes, intermedias y blandas. Estas dos últimas categorías son reconocibles además porque presentan un verde algo traslúcido. Para efectos del muestreo se descartaron racimos con cualquier signo de necrosis en raquis o pedicelo. Dentro de cada grupo (tratamientos) se colectó un racimo por planta hasta totalizar 10 racimos, siendo cada racimo una repetición, en un diseño completamente al azar. Con el objeto de efectuar determinaciones del nivel final de sólidos solubles alcanzado por los racimos portadores de baya blanda o intermedia, se marcaron 10 racimos en las mismas plantas y se dejaron hasta una semana después del fin de la cosecha comercial. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza considerando un diseño completamente al azar con 10 repeticiones. Las medias se compararon de acuerdo al procedimiento de Duncan con un nivel de significancia del 5%.

### Análisis efectuados

En el laboratorio, al día siguiente de colectadas las muestras, se separaron las bayas del raquis y se tipificaron en cuanto a: grados Brix, peso de las bayas y firmeza de las mismas conservando el pedicelo. La determinación de firmeza consideró 25 bayas por racimo, utilizando un determinador de firmeza automatizado (FirmTech 2, Bioworks Inc, Oklahoma, USA) especialmente diseñado para realizar tal determinación en frutos pequeños (Mitchum *et al.*, 1997). Este equipo estaba conectado a un computador para transferencia de

datos, y ejerce fuerza hasta lograr una deformación leve de la baya. La medición fue individual para cada baya y se expresa en los gramos de fuerza requeridos para deformar 1 mm (g-fuerza mm<sup>-1</sup>). El peso de la baya y los grados Brix se determinaron en base a 10 bayas tomadas al azar de cada uno de los racimos desgranados.

Para los análisis químicos, bayas provenientes de los mismos racimos anteriores (20 por racimo) se molieron en una juguera, luego se liofilizaron y mantuvieron a -40°C hasta su análisis. El raquis de cada racimo se secó a 60°C y se molió para ser analizado. Los análisis contemplados para raquis y bayas fueron: N total (método de Kjeldahl), arginina (Gilboe y Williams, 1956), y putrescina (Flores y Galston, 1982). Para N se efectuó una determinación por separado para la pulpa y la piel.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evaluación al tacto permitió la diferenciación entre bayas firmes respecto de bayas blandas o intermedias, pero no entre bayas blandas e intermedias (Cuadro 1). Esta incapacidad indicó el grado de subjetividad de la evaluación táctil, y la necesidad de contar con mediciones objetivas de este parámetro, aspecto planteado por Zoffoli y Rodríguez (2000). Las bayas firmes presentaron valores semejantes a los determinados con el mismo equipo en la temporada anterior para la misma categoría y variedad de uva (Datos no presentados).

**Cuadro 1. Caracterización de las bayas en términos de la firmeza al tacto, firmeza instrumental, sólidos solubles y peso de bayas.**

**Table 1. Characterization of berries in terms of tactile and instrumental firmness, soluble solids and berry weight.**

Firmeza al tacto	Firmeza instrumental <sup>1</sup> gF mm <sup>-1</sup>	Sólidos solubles (%)	Peso bayas (g)
Firme	224,0 a	15,7 a	5,51 a
Intermedia	189,1 b	13,8 b	3,95 b
Blanda	188,2 b	11,9 c	3,46 b

<sup>1</sup> Equipo Firmtech 2; gF: g de fuerza.

Letras distintas indican diferencias significativas según prueba de Duncan P ≤ 0,05.

Por otra parte se observó que la concentración de sólidos solubles en las bayas firmes fue significativamente superior ( $P \leq 0,05$ ) a la de bayas de consistencia intermedia, y a blandas (Cuadro 1). El bajo nivel de sólidos solubles de las bayas blandas e intermedias al momento del muestreo indicaría una anomalía en la acumulación de azúcares, semejante a la que se produce en el problema de "palo negro" (Morrison y Iodi, 1990). Sin embargo, los muestreos de los 10 racimos en cada categoría dejados en el parrón demostraron que, a diferencia de los racimos con palo negro, tres semanas después del inicio de la cosecha éstos prácticamente alcanzaron los niveles de sólidos solubles requeridos para exportar (promedio de 15,5° Brix para bayas blandas y de 15,7 °Brix para bayas intermedias).

En relación al peso de las bayas, se observó que las bayas de la categoría firmes tuvieron mayor peso que las blandas y que las intermedias ( $P \leq 0,05$ ). Sin embargo, no existieron diferencias significativas entre las bayas intermedias y las blandas (Cuadro 1). Este menor peso de las bayas indicaría un menor suministro de agua y/o solutos minerales y orgánicos, y menor madurez al momento en que se efectuaron los muestreos. Los racimos marcados con bayas blandas e intermedias para evaluaciones posteriores (una semana después del fin de la cosecha comercial), indicaron que las bayas blandas e intermedias siguieron creciendo, alcanzando pesos promedio levemente inferiores a los 5 g y calibres promedio de 15,6 mm, cercanos a los requeridos para exportar, que son 16 mm.

El contenido de diferentes compuestos nitrogenados en bayas completas, tejidos de bayas y raquis para diferentes grados de firmeza se presenta en el Cuadro 2.

La concentración de N total fue mayor en la pulpa y piel de las bayas blandas e intermedias, que en bayas firmes ( $P \leq 0,05$ ). Los contenidos de arginina fueron estadísticamente inferiores en las bayas firmes; la arginina es un aminoácido muy abundante en los tejidos de la vid, incluyendo bayas y raquis, siendo la forma preferencial de acumulación de N de reserva en esta especie (Kliwer y Cook, 1974). La decarboxilación de este aminoácido inicia la ruta metabólica que conduce a la formación de putrescina en vides (Adams,

1991). Por lo tanto, en las bayas blandas existe mayor cantidad del sustrato que potencialmente podría generar putrescina en tejidos de la vid.

Los contenidos de putrescina de bayas y raquis fueron menores en racimos portadores de bayas firmes. Las diferencias fueron mayores en los raquis, en los cuales se diferenciaron estadísticamente las tres condiciones de racimos. Los niveles de putrescina determinados en los raquis de racimos con baya blanda fueron similares a los determinados en el sector medio de los raquis portadores de racimos con palo negro en las var. Beauty Seedless y Flame Seedless en el valle de Aconcagua (Ruiz y Moyano, 1998). La acumulación de putrescina produce desequilibrios a nivel de la membrana celular, lo que conduce a daños en el tejido con resultado de necrosis (Di Tomasso *et al.*, 1989). Es posible especular que niveles menores de putrescina produzcan desequilibrios sin implicar necrosis como en el caso de palo negro. Los resultados obtenidos hacen pensar que el problema de baya blanda se parece al palo negro tanto por los síntomas externos como por las anomalías bioquímicas en los tejidos.

Queda, por el momento, fuera del alcance del artículo la identificación de los factores que gatillan estas acumulaciones, y que serían posiblemente las responsables tanto de baya blanda como del "palo negro".

**Cuadro 2. Contenido de nitrógeno y compuestos nitrogenados en pulpa, piel, bayas y raquis de racimos de diferentes condiciones de firmeza.**

**Table 2. Content of nitrogen and nitrogen compounds in pulp, skin, berries and rachis of bunches with different firmness conditions.**

	Condición baya o racimo		
	Firme	Intermedia	Blanda
N total pulpa, %	0,66 b	0,86 a	0,96 a
N total piel, %	1,01 b	1,13 a	1,11 a
Arginina bayas completas, %	0,61 b	0,65 a	0,67 a
Putrescina raquis, nM g <sup>-1</sup>	185 b	220 b	272 a
Putrescina bayas, nM g <sup>-1</sup>	471 c	598 b	786 a

Letras distintas indican diferencias significativas según prueba de Duncan  $P \leq 0,05$ .

## CONCLUSIONES

Existe una asociación entre la acumulación de N, de arginina y de putrescina y el trastorno denominado baya blanda. La relación con el desorden estaría centrado en las acumulaciones de putrescina tanto en el raquis como en las bayas. Estas acumulaciones se producen concordantemente con incrementos de arginina, que de

acuerdo a información extranjera es el único sustrato capaz de generar putrescina en vides.

Los resultados obtenidos permiten aventurar la hipótesis de que la baya blanda sería un trastorno vinculado a anomalías del metabolismo nitrogenado, y que sería un caso atenuado del síndrome de palo negro.

## LITERATURA CITADA

- Adams, D.O. 1991. Accumulation of putrescine in grapevine leaves showing symptoms of potassium deficiency or "Spring fever". p. 126-132. *In* JoAnne M. Rantz (ed.). International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wines. 18-19 June 1991. Washington State University, Seattle, Washington, USA.
- Christensen, P., J. Boggero, and D.O. Adams. 1991. The relationship of nitrogen and other nutritional elements to the bunch stem necrosis disorder "Waterberry". p. 108-109. *In* JoAnne M. Rantz (ed.). International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wines. 18-19 June 1991. Washington State University, Seattle, Washington, USA.
- Del Solar, C.E., J.A. Soza, M.P. Chamaca, and L.P. López. 2000. Effect of quality and post harvest condition in Crimson Seedless and Red Globe by means of the use of cytokinins, calcium, and girdling. p. 89. Serie Actas Nº 6. *In* Retamales, J. (ed.). 4<sup>th</sup> International Symposium on Table Grapes, La Serena, Chile. 28 November-1 Dec. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, La Serena, Chile.
- Di Tomasso, J.M., J.E. Schaff, and L.V. Kochian. 1989. Putrescine-induced wounding and its effect on membrane integrity and ion transport processes in root of intact corn seedlings. *Plant. Physiol.* 90:988-995.
- Flores, H.E., and A.W. Galston. 1982. Analysis of polyamines in higher plants by high performance liquid chromatography. *Plant. Physiol.* 69:701-706.
- Gacitúa, M.C. 1985. Descripción y fenología del Palo negro en vid variedad Sultanina. 79 p. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Veterinarias y Forestales, Santiago, Chile.
- Gilboe, D.D., and J.N. Williams. 1956. Evaluation of the Sakaguchi reaction for quantitative determination of arginine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 91:535-536.
- Ibacache, A.E., P.B. Lombard, and S.F. Price. 1991. Girdling and shading affect inflorescences necrosis, fruit set and tissue ammonium in Pinot Noir grapevines. p. 278-291. *In* JoAnne M. Rantz (ed.). International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wines. 18-19 June 1991. Washington State University, Seattle, Washington, USA.
- Jordan, D., P. Breen, S.F. Price, and P. Lombard. 1991. Inflorescence necrosis. Is ammonium the culprit?. p.108-109. *In* JoAnne M. Rantz (ed.). International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wines. 18-19 June 1991. Seattle, Washington, USA.
- Kliewer, W.M., and J.A. Cook. 1974. Arginine levels in grape canes and fruits as indicators of nitrogen status of vineyards. *Am. J. Enol. Vitic.* 25:111-119.
- Mitchum, E., M. Clayton, B. Bassi, and S. Southwick. 1997. Evaluation of four cherry firmness measuring devices. p.34-43. 13<sup>th</sup> Annual Postharvest Conference. March 1997. University of California, Department of Pomology, Davis, California, USA.
- Morrison, J.C., and M. Iodi. 1990. The influence of waterberry on the development and composition of Thompson Seedless grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 41:301-305.
- ODEPA 2002. Catastro vitivinícola nacional. Disponible en: [www.odepa.gob.cl](http://www.odepa.gob.cl). Leído el 29 de Octubre de 2004.
- Ruiz, R., and S. Moyano. 1998. Bunch stem necrosis in grapes and its relationship to elevated putrescine levels and low potassium content. *Aust. and N. Z. Wine Industry J.* 13:319-324.
- Silva, H., J. Rodríguez, y G. Gil. 1986. Desección del escobajo de la vid (palo negro): ¿un exceso de nitrógeno amoniacal? *ACONEX* 14:9-11.
- Vieira, A. 1973. El "palo negro" una enfermedad fisiológica de la vid intrigante y escurridiza. *ACONEX* 12:33-37.
- Zoffoli, J.P., and J. Rodríguez. 2000. Comparison of devices for the assessment of table grape berry texture. p. 85. Serie Actas Nº 6. *In* Retamales, J. (ed.). International Symposium on Table Grapes. La Serena, Chile. 28 November –1 Dec. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, La Serena, Chile.