

CAMBIOS ESTRUCTURALES EN LAS VESICULAS DE JUGO DURANTE EL DESARROLLO DE LOS FRUTOS DE LIMA PERSA Y SU RELACION CON EL DAÑO DEL EXTREMO ESTILAR

María E. García¹, Josefina Rodríguez² y Emilia García³

1 Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas

2 Estación Nacional de Sanidad de los Cítricos (ENSAE)

3 Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA)

Palabras claves: Microscopía, fruto, trastornos funcionales, deterioro, estructura celular, fisiología vegetal.

ABSTRACT. Stylar end breakdown of Persa lime is a physiological disorder causing great market losses. So far, it results from juice vesicle rupture and its content extends mainly to stylar zone, it being toxic to surrounding cells. When using transmission electron microscopy, a damaged cell structure was observed at fruit development, which was much more evident in damaged fruits. Scanning electron microscopy revealed a deep opening towards vesicle cell union in stylar breakdown fruits. Thus, vesicle rupture is supposed to be associated to degrading processes related to fruit senescence.

RÉSUMEN. El daño del extremo estilar de la lima Persa es un desorden fisiológico, que ocasiona grandes pérdidas en su comercialización. Hasta el momento se plantea que el mismo se produce debido a la ruptura de las vesículas de jugo, cuyo contenido se extiende principalmente a la zona estilar, resultando tóxico a las células que lo rodean. Con el uso de la microscopía electrónica de transmisión se observó deterioro en la estructura celular, con el desarrollo de los frutos, siendo más evidente en los frutos con daño. La microscopía electrónica de barrido reveló una profunda abertura, en el sentido de la unión de las células en vesículas de frutos con daño estilar. Todo lo observado hace suponer que el rompimiento de las vesículas se encuentra asociado a procesos degradativos relacionados con la senescencia de estos frutos.

INTRODUCCION

Las vesículas de jugo constituyen la porción comestible de los frutos cítricos, por lo que tienen gran importancia económica.

En el caso de la lima Persa estas vesículas revisten otro interés, ya que uno de los desórdenes fisiológicos que más afecta

la comercialización de estos frutos, el daño del extremo estilar, se plantea que se produce debido a la ruptura de las mismas. Al respecto Grierson (1986) señala que debido a esta ruptura el jugo invade la zona estilar, resultando tóxico para el tejido, provocando la pudrición del mismo con la presencia de agentes secundarios.

Este rompimiento de las vesículas de jugo puede deberse a cierta fragilidad de las mismas, como una manifestación de características propias de los frutos de esta especie, relacionadas probablemente con los cambios inherentes a la maduración. Para profundizar en este sentido, se decidió acometer el estudio de la ultraestructura de las vesículas de jugo en frutos de lima Persa durante su desarrollo, con vistas a aportar elementos que permitan conocer las causas de este desorden

MATERIALES Y METODOS

Se tomaron vesículas aisladas en la zona estilar próximas al eje, de frutos de lima Persa (*C. latifolia*, Tan) sanos en tres momentos del desarrollo: frutos de 3,9 cm de diámetro promedio, tomados en el mes de abril; frutos de 4,3 cm de diámetro promedio, tomados en el mes de mayo y frutos de 5,3 cm de diámetro promedio tomados en el mes de junio. De estos se tomaron además frutos con daño estilar evidente. Para las observaciones en microscopía electrónica de transmisión, se fijaron las vesículas con glutaraldehído al 5 %, pH 7,2-7,4 en buffer fosfato a 4 °C, la primera hora al vacío y se mantuvieron toda la noche en esta solución. Se lavaron durante el día siguiente con buffer fosfato a 4 °C y se postfijaron con OsO_4 al 1 % a 4 °C durante toda la noche. Después de lavados con buffer fosfato, se deshidrataron con acetona. La inclusión se realizó utilizando resina Spurr de baja viscosidad. Los cortes se hicieron en un ultramicrotomo Ultratome III de la LKB, se post-contrastaron de acuerdo con Reynolds (1963) y se observaron en un microscopio electrónico Jem 100 s de la Jeol. Para las muestras procesadas para microscopía electrónica de barrido, se siguió el mismo procedimiento que para transmisión en cuanto a fijación y deshidratación, haciéndose esta con etanol. Antes de someter las muestras a punto crítico, se situaron en etanol absoluto, por lo menos 2 horas. Se sometieron las muestras a punto crítico con CO_2 en un Samdri 790.

Posteriormente se realizó la cubierta con oro en un equipo Fine Coat, Ion Sputter JFC-1100. Las muestras se observaron en un microscopio electrónico de barrido ASID-4-D.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos en los estudios de microscopía electrónica de transmisión, muestran un deterioro evidente de las estructuras celulares con el desarrollo de los frutos y más acentuado en los frutos con daño estilar.

La figura 1 muestra células parenquimáticas que forman parte del cuerpo de vesículas de jugo de frutos de 3,9 cm de diámetro promedio. En este tipo de células parece ser característica la presencia de paredes finas, probablemente producto de la presión interna del jugo. Se observa en la fig. 1 plastidio con gránulo de almidón, mitocondria, restos membranosos de forma esférica, algunos con doble membrana, lo cual hace pensar en restos de organelos celulares.

La fig. 2 muestra una célula de vesícula de jugo, de frutos de 4,3 cm de diámetro. El corte corresponde a células tubulares situadas debajo de la capa de células epidérmicas, que presentan paredes más gruesas con lámina media bien definida. La membrana plasmática es evidente y a ella se han asociado gotas de lípidos y cuerpo electrón denso.

Se observan mitocondrias con estroma denso y crestas borrosas; en el citoplasma restos celulares, algunos con doble membrana. También detritos abundantes y lagunas en la pared celular, próximas a la lámina media. Thomson y Platt-Aloia (1987) señalan que, en cuanto a las variaciones en la estructura celular, no existe un patrón de senescencia universal para todo tipo de tejido u órgano, y que es necesario definirlo para cada objeto de estudio en particular. En estudios realizados en cotiledones de *Vigna unguiculata* (L.) se encontró, en estado de senescencia avanzado, material electrón denso asociado a la membrana plasmática. Igualmente Thomson y Platt-Aloia (1987) encontraron lagunas en la pared celular en la zona cercana a la unión entre células, lo cual puede observarse también en este caso.

En los frutos con 5,3 cm de diámetro (Fig. 3) el deterioro se hace más evidente. Se observa la pared celular con lagunas, membrana plasmática separada de la pared con cuerpos electrón denso adheridos. Mitocondria con estoma denso y aumento de la vesiculación en el citoplasma. Estas vesículas son restos de procesos degradativos, por lo que pueden estar asociados a la aparición de daño en los tejidos, producto de diversos factores o procesos relacionados con la senescencia.

Josefina Rodríguez (1985) encontró cuerpos multivesiculares en tejidos de frutos de lima Persa y naranja Valencia afectados con daño por frío. Harris y Arnott (1973) señalaron la posibilidad de que la aparición de éstos esté relacionada con procesos degradativos o de senescencia. En el presente estudio aparecen en frutos sanos pero en etapa avanzada de su desarrollo, por lo que parecen estar asociados fundamentalmente a procesos relacionados con el envejecimiento de los frutos.

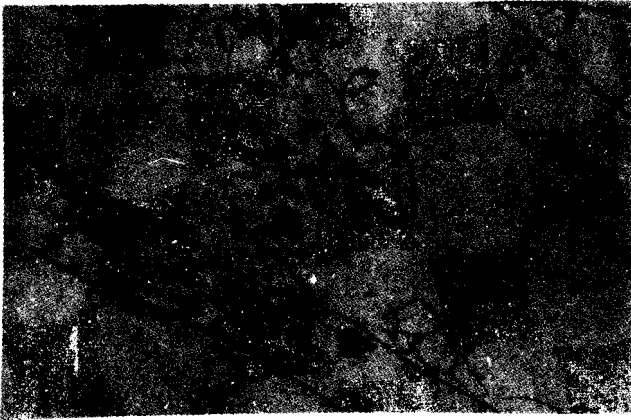


Figura 1. (7 000 x) vesículas de jugo de frutos con 3,9 cm de diámetro \bar{x} . Se observan plastidio (P), mitocondrias (m), restos celulares (RC), pared celular (PC).



Figura 2. (10 000 x) vesícula de jugo de frutos con diámetro \bar{x} = 4,3 cm. Pared celular (PC), lámina media (l), membrana plasmática (MP), material electrón denso (ed), gotas de lípidos (g), mitocondrias (m) y lagunas (la).



Figura 3. (8 000 x) vesículas de jugo de frutos con diámetro \bar{x} = 5,3 cm. Pared celular (pc), lámina media (l), membrana plasmática (mp), material electrón denso (ed), cuerpos multivesiculares (cmv), mitocondrias (m) y lagunas (la).

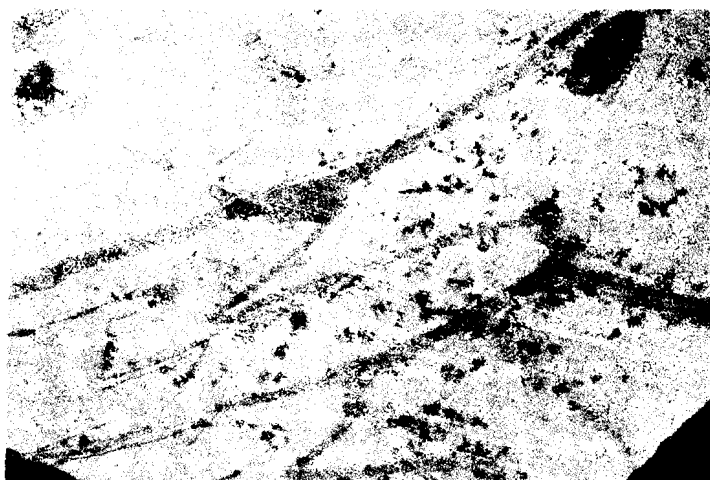


Figura 4. (6 000 x) vesícula de jugo de frutos con daño estilar diámetro \bar{X} 5,3 cm. Se observa pared celular (pc), membrana plasmática (mp), detritos celulares (dc) y cuerpos densos (cd).

En la figura 4 aparecen células del cuerpo de vesícula de jugo de frutos con daño, con diámetro promedio de 5,3 cm.

Se observa la pared celular fina, membrana plasmática, abundantes detritos celulares y cuerpos densos y ausencia de organelos definidos.

Thomson y Platt-Aloia (1976) encontraron en células epidérmicas de la corteza de frutos de naranja Valencia, en estado avanzado de senescencia, la pérdida de definición de mitocondrias y plastidios, así como la acumulación de gránulos y material lipídico; ellos señalan que con la senescencia estas células pierden gradualmente la capacidad de mantener el metabolismo celular y la integridad de las membranas.

El deterioro evidente de las estructuras celulares observado en las vesículas de jugo de la lima Persa en los estadios analizados, parece indicar que éstos se encuentran en proceso de senescencia, la cual se evidencia bastante acelerada en estos tejidos.

Mediante la microscopía electrónica de barrido (Fig. 5), pudo observarse en vesícula de jugo de frutos con daño estilar (Fig. 5 a y c) una profunda abertura. La figura 5 b muestra ruptura de la vesícula, pero probablemente por daño mecánico. En ésta se observan los bordes irregulares, mientras que en a y c la abertura se aprecia longitudinal, en el sentido de unión de las células.

Davenport, Campbell y Ort (1976) plantean que el rompimiento de las vesículas de jugo puede deberse a que:

1. las paredes celulares de las membranas se debilitan en la medida que el fruto crece y no resisten los cambios de la presión de turgencia,
2. la presión de turgencia o presión interna del fruto alcanza un nivel que rompe las vesículas de jugo.

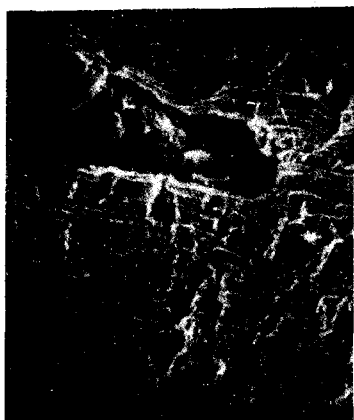
Ahora bien, es necesario analizar hasta qué punto los cambios en la presión de turgencia pueden afectar la vesícula hasta romperla, si ésta no tiene comunicación vascular con el xilema y floema del pericarpio (Schneider, 1958; Kaufman, 1970; Syvertsen y Albrigo, 1980) y la entrada y salida de agua en las mismas se produce vía simplasto.

Kaufman (1970) encontró que el potencial osmótico en las vesículas se mantenía prácticamente constante durante el día, con muy poca variación del potencial hídrico. Sin embargo, señala que si las paredes de las vesículas son rígidas, una pequeña entrada de agua podría variar la turgencia de las mismas, sin cambiar apreciablemente el potencial osmótico. Esto podría, en el caso de la lima Persa provocar ruptura de la vesícula, como han planteado Davenport, Campbell y Ort (1976). No obstante, al analizar los resultados encontrados en este trabajo, parece más probable que este rompimiento se deba a la fragilidad de estos tejidos, provocada posiblemente por la acción de enzimas que toman parte en los procesos degradativos que se llevan a cabo durante el proceso de senescencia.

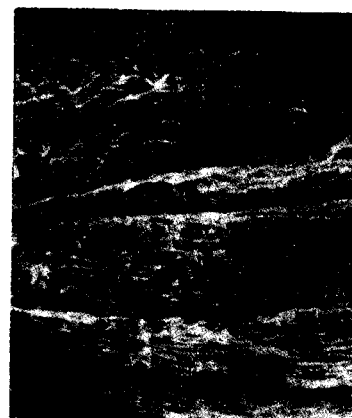
Esta hipótesis debe ser corroborada en el futuro mediante la profundización en los estudios bioquímicos.



a) (5 000 x)



b) (100 x)



c) (100 x)

Figura 5. Vesículas de jugo de frutos de lima Persa con daño del extremo estilar y diámetro \bar{x} = 5,3 cm 5 a y 5 c profunda abertura en el cuerpo de la vesícula. 5 b ruptura en el cuerpo de la vesícula evidentemente por daño mecánico.

BIBLIOGRAFIA

- Davenport, T. L. Stylar end breakdown in Tahiti lime: some causes and cures. / T.L. Davenport, C. W. Campbell, L. P. Ort.-- *En*: Proceedings Florida State Hort. Soc., 89, 1976.-- p. 245-248 ✓
- Grierson, W. Physiological disorders. / W. Grierson.-- *En*: Fresh Citrus Fruits, 1986.-- p. 361-377.
- Harris, J. B. y H. J. Arnott. Effects of Senescence on chloroplast of the tobacco leaf. *Tissue and Cell (Cameroon)* 5(527), 1973.
- Rodríguez, Josefina. Caracterización morfológica de la lima Persa (*Citrus latifolia*) y la naranja Valencia (*Citrus sinensis*, L. Osbeck) en la conservación refrigerada y el cambio de color. / Josefina Rodríguez.-- Tesis de grado (C.Dr. en Ciencias Agrícolas); 1985.
- Reynolds, E. S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *Journal Cell Biol.* 17:208, 1963.
- Kaufman, M. R. Water potential components in Growing citrus Fruits. *Plant Physiol.* (Madison) 46:143, 1970.
- Schneider, R. H. The Anatomy of Citrus. / R. H. Schneider.-- *En*: The Citrus Industry, 1958.-- t. 2, p. 1-85.
- Syvertsen, J. P. y L. G. Albrigo. Seasonal and diurnal Citrus leaf and fruit Water relation. *Botanical Gazette (Chicago)* 141(4):440-446, 1980.
- Thomson, W. W. Ultraestructure and Senescence in plants. / W. W. Thomson.-- *En*: Plant Senescence: It's Biochemistry and Physiology.-- New York : American Society of Plant Physiologist, 1987.

Recibido: 26 de diciembre de 1989