

MEDICIÓN DE SEÑALES ELÉCTRICAS COMO HERRAMIENTA DE MONITOREO DE RESPUESTAS DEL PALTO (*Persea americana* Mill.) ANTE EL CONTENIDO DE AGUA EN EL SUELO.

P. Gil^{1, 2*}, L. Gurovich¹, B. Schaffer³, J. Alcayaga⁴ y R. Iturriaga⁵.

¹Departamento de Fruticultura y Enología. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Pontificia Universidad Católica de Chile. Casilla 306-22. Santiago, Chile.

²Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Chorrillos 86, La Cruz. Chile.

³Tropical Research and Education Center, University of Florida, 18905 S.W. 280 Street Homestead, Florida, USA

⁴Laboratorio de Fisiología Celular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Casilla 653, Santiago, Chile

⁵Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Portugal 49, Santiago, Chile.

El monitoreo del contenido hídrico del suelo junto con técnicas de fitomonitorio han demostrado ser herramientas útiles para tomar decisiones de riego en huertos de palto. Existen muchos sensores para medir contenido de agua del suelo, pero opciones para la medición del estatus hídrico de la planta son limitadas. El objetivo de este estudio es determinar si la medición de la variación de voltaje entre raíces y hojas se puede utilizar como técnica de fitomonitorio relacionada con el contenido en agua del suelo. La diferencia de voltaje entre raíces y hojas fue registrada en paltos Hass de 2 años injertados en patrón Duke 7, bajo condiciones de laboratorio. Se midieron diferencias de voltaje inicialmente por cerca de 2 horas en árboles sin alteraciones para determinar condiciones basales (control). Las plantas luego fueron expuestas a ciclos de desecamiento y rehidratación del suelo. La diferencia de potencial eléctrico extracelular entre la base del tronco y el pecíolo de una hoja fue registrada continuamente después de desecamiento y rehidratación. Los resultados indican que cambios en el contenido en agua del suelo son acompañados por un cambio lento pero significativo en la señal eléctrica medida en el pecíolo de la hoja, el cual es mayor luego de 52 y 32 minutos para desecamiento y rehidratación del suelo respectivamente. Mediciones realizadas en plantas anilladas sugieren que la señal eléctrica es propagada en el xilema. Existe entonces la posibilidad de utilizar diferencias de voltaje entre raíces y brotes como técnica de fitomonitorio en plantas de palto

Palabras claves: fitomonitorio, potencial eléctrico, contenido de agua en el suelo.

ELECTRICAL SIGNAL MEASUREMENTS AS A TOOL FOR MONITORING RESPONSES OF AVOCADO (*Persea americana* Mill) TREES TO SOIL WATER CONTENT

P. Gil^{1,2*}, L. Gurovich¹, B. Schaffer³, J. Alcayaga⁴ and R. Iturriaga⁵.

¹Departamento de Fruticultura y Enología. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Pontificia Universidad Católica de Chile. Casilla 306-22. Santiago, Chile.

²Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Chorrillos 86, La Cruz. Chile.

³Tropical Research and Education Center, University of Florida, 18905 S.W. 280 Street Homestead, Florida, USA

⁴Laboratorio de Fisiología Celular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Casilla 653, Santiago, Chile

⁵Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Portugal 49, Santiago, Chile.

Monitoring soil water content together with plant-monitoring techniques have proved to be very good management tools for making irrigation decisions in avocado orchards. There are many well-tested devices for monitoring soil moisture content in orchards, but options for measuring plant water status are limited. The objective of this study was to determine if measuring variations in electrical voltage differences between roots and leaves can be used as a plant-monitoring technique related to soil water content. Root and shoot voltages differences were monitored in two-year-old 'Hass' avocado trees grafted onto Duke 7 rootstocks in a laboratory. Root and shoot voltages differences were initially measured for about 2 hours in unaltered trees to determine steady state (control) conditions. Plants were then exposed to cycles of soil (root) drying and re-watering. The extracellular electrical potential difference between the base of the trunk and the leaf petiole was continuously monitored after exposure to soil drying or re-watering. Results indicated that a change in soil water content induced by root drying and re-watering was accompanied by a slow significant change in the electrical signal at the leaf petiole which was greatest after 52 and 32 minutes for root drying and re-watering, respectively. Measurements in girdled plants suggest that the electrical signal is propagated in the xylem. Therefore, it is possible to use electrical voltage differences between roots and shoots as a plant-monitoring technique to relate physiological responses of avocado trees to soil moisture content.

Key words: Phytomonitoring, electrical signal, soil water content

1. Introducción.

El palto (*Persea americana* Mill.) es una especie frutal muy sensible a la sequía y a la asfixia radical. Algunas razones de la baja productividad de esta especie se pueden relacionar con el estatus hídrico del cultivo, el cual ocasionalmente puede encontrarse con falta de riego o bien con exceso de agua lo que resulta en asfixia radical. En Chile, la asfixia radical del palto es una creciente preocupación a los productores de palto ya que los árboles son muy sensibles a la falta del oxígeno del suelo y la producción comercial se ha ampliado a zonas con suelos limitantes, caracterizados por sus texturas arcillosas y dificultades en el drenaje.

Un manejo apropiado del riego en huertos de palto es necesario para asegurar una buena calidad de fruta y producción (Lahav y Whiley, 2002). Un exceso o falta del agua durante crecimiento de la fruta limita la producción y su calidad, especialmente si el estrés ocurre entre primavera y comienzos de verano (Whiley et al., 1988a; 1988b).

El monitoreo del contenido de agua en el suelo junto con técnicas de fitomonitorio, han demostrado para ser muy buenas herramientas de manejo para tomar decisiones de riego en huertos de palto. Existen varios aparatos ya probados para monitorear el contenido de agua del suelo en huertos frutales, pero las opciones para medir el estatus hídrico de la planta son más limitadas. Técnicas de fitomonitorio se han probado con variables grados de éxito en la programación de riego en huertos de palto. Éstos incluyen la medición del grosor de la hoja, medición del potencial hídrico la hoja, velocidad de flujo de savia y diferencias diurnas del diámetro del tronco o de la fruta (Lahav y Whiley, 2002). La dendrometría como indicador del estatus hídrico de la planta, que consiste en la medición de las diferencias diurnas de diámetro de tronco y fruto, se ha utilizado recientemente en Chile para programar en “sintonía fina” el riego en el cultivo del palto (Gurovich *et al.*, 2006). La medición continua de dendrometría en tiempo real para determinar el estatus hídrico de la árboles de palto, han indicado que éstos responden en forma muy rápida a las fluctuaciones en el contenido en agua del suelo. La dendrometría ha sido una técnica útil para la programación de riego y ha podido ayudar a mejorar la producción y el calibre de la fruta en huertos de palto. Sin embargo, esta técnica sigue siendo muy costosa y la instalación de un suficiente número de dendrómetros para proporcionar un número de réplicas adecuadas en un huerto puede ser muy costosa. Existe entonces una necesidad de explorar métodos alternativos para el monitoreo de estatus hídrico de la planta en tiempo real, relacionados con el contenido de agua del suelo.

La presencia de las señales de rápida conducción generadas en las raíces y conducidas a través del sistema vascular a las hojas, se ha estudiado en varias especies vegetales. La estimulación de raíces de *Salix viminalis* mediante la aplicación de nutrientes, hormonas o de cambios en el pH, ha mostrado provocar cambios en la diferencia de potencial eléctrico entre raíces y hojas. Estos cambios son seguidos por una modificación de la respiración foliar y de las tasas fotosintéticas dentro tres minutos después de que los tratamientos son aplicados, indicando que los cambios en las señales eléctricas pueden reflejar o ser un mecanismo directo de comunicación entre raíces y hojas (Fromm y Eschrich, 1993; Mishra y otros, 2001). Por su parte, un estrés osmótico aplicado repentinamente a las raíces del girasol genera una diferencia de potencial eléctrico entre raíces y hojas, acompañada de disminuciones en la conductancia estomática (Mishra et al., 2001). Se ha postulado que señales eléctricas podrían ser una vía de comunicación entre raíces y brotes en plantas bajo estrés hídrico (Fromm y Fei, 1998). Así, la respuesta estomática ante el contenido en agua del suelo podría gatillarse por una diferencia de potencial eléctrico entre raíces y hojas, lo que puede medirse fácilmente vía electrodos conectados a un amplificador. Esto abre la posibilidad de desarrollar una nueva

técnica de fitomonitorio para medir la respuesta de la planta al contenido de agua del suelo basado en diferencias del voltaje medidas entre raíces y hojas.

El objetivo de este estudio fue determinar si cambios de voltaje entre las raíces y hojas de palto se pueden medir y relacionar con cambios en el contenido de agua del suelo.

2. Materiales y métodos

Este trabajo es parte de una investigación más profunda acerca de la señalización eléctrica entre raíz y hoja en respuesta a varios estímulos ambientales (Gil *et al.*, 2007). Las técnicas utilizadas en este estudio corresponden a las mismas del estudio citado.

Material vegetal.

Paltos de dos años cv. Hass injertados en patrón clonal Duque 7 fueron utilizados en este estudio. Las plantas fueron obtenidas de un vivero comercial, donde crecieron en un sustrato compuesto por turba, perlita, compost y arena, fertilizado según prácticas estándares de vivero. Las plantas presentaban una altura de entre 1.2 y 1.4 m con un número variable de hojas (22 - 45) por planta.

Diseño del experimento.

Control.

En condiciones de laboratorio, cambios en el voltaje fueron medidos por cerca de 80 minutos en ocho plantas de palto (repeticiones) bajo condiciones ambientales estables, con el fin de determinar diferencias del voltaje entre la base del tallo y el pecíolo de la hoja (ΔV_{L-S}) en ausencia de alteraciones ambientales (control o línea base).

Tratamientos: desecamiento radical y mojamiento.

Las mismas ocho plantas fueron luego expuestas a los tratamientos. 1) desecamiento de raíces por exposición del pan de suelo a una corriente de aire dirigida a temperatura ambiente (20°C) por cerca de 80 minutos, y 2) rehidratación de las raíces agregando 500 cc de agua destilada al suelo y posterior monitoreo de la respuesta de ΔV_{L-S} por 120 minutos. El ΔV_{L-S} fue continuamente registrado en cada experimento.

La temperatura del aire durante el período de medición estaba entre 22.5 a 23.3°C y la temperatura de la hoja se encontraba entre 22.4 a 23.7°C. El flujo fotosintético de fotones (PPF) (Quantum sensor QSS-01 light meter, Lehle Seeds, Round Rock, Texas, USA) directamente sobre la superficie de la hoja fue de cerca de 85 μmol de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, valor que se encuentra sobre el punto de compensación lumínica de esta especie el cual es de 30 μmol de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Whiley, 1994).

Mediciones

Medición de voltaje.

Se ubicaron electrodos superficiales en el tallo a 20 cm sobre el nivel del suelo y en el pecíolo de una hoja ubicada en el tercio inferior de la canopia (Fromm y Fei, 1998). Los electrodos utilizados consistieron en un hilo grueso de algodón absorbido con KCl 0.1 M sumergidos en un tubo Eppendorf de 2.0 ml que contenía KCl en concentración de 0.1 M. Electrodos de Ag/AgCl (0,4 mm de diámetro) fueron inmersos en el tubo Eppendorf y fueron conectados a un amplificador (M-707 Microprobe System; World Precision Instruments, Sarasota, Florida, USA, 10^{11} ohm). La información saliente fue registrada en un sistema análogo de adquisición digital Powerlab (AD Instruments, Castle Hill, Australia). Antes de comenzar cada medición, ambos electrodos fueron colocados en una solución de KCl al 0,1 M y llevados a cero para compensar los potenciales de juntura. Para registrar ΔV_{L-S} los electrodos ubicados en el pecíolo actuaron como electrodos de registro, mientras que el electrodo ubicado en el tallo sirvió como referencia.

Medición de conductancia estomática.

La conductancia estomática fue medida con un porómetro de estado estacionario (Li-Cor 1600, Lincoln, Nebraska, USA) según lo descrito por Prive y Janes (2003) y Raviv et al. (2001). La conductancia estomática fue medida en la misma hoja donde se colocó el electrodo (Fig.1). La conductancia estomática fue medida en cada una de las 8 repeticiones antes y después de que el voltaje fuera medido durante los tratamientos (desechamiento y mojamiento radical).

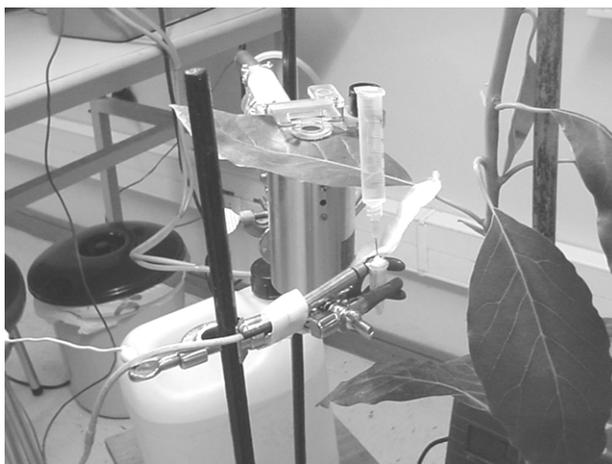


Figura 1: Medición de la conductancia estomática y voltaje en hoja de palto.

Medición de la humedad del suelo.

Las plantas fueron ubicadas en una balanza digital (Mettler Toledo, Hispanic Precision, Model Wildcat, Columbus, Ohio, USA) durante cada uno de los tratamientos; el peso total de la planta, suelo y contenedor fue determinado antes y después de cada tratamiento. Al final del experimento las plantas fueron cortadas a nivel de la superficie del suelo, y el sustrato y el contenedor

fueron pesados nuevamente. El contenido gravimétrico de la humedad del suelo (ω) fue entonces determinado con la siguiente fórmula:

$$\omega = ((\text{peso suelo húmedo} - \text{peso suelo seco}) / \text{peso suelo seco}) * 100$$

Análisis de datos

El efecto de los tratamientos en el Voltaje de máxima diferencia menos Voltaje inicial (Diferencia de voltaje) fue analizado mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y un test Tukey estudentizado para separación de medias. ($P \leq 0.05$). Los efectos de cambios en ΔV_{L-S} en Δg_s fueron analizados mediante regresión lineal. Los datos fueron analizados utilizando el programa estadístico SAS (SAS Institute, Cary, North Carolina, USA).

3. Resultados y discusión

Controles

Aunque las plantas mostraron diferentes valores iniciales de ΔV_{L-S} , éstos permanecieron relativamente constantes, con pequeñas modificaciones en ΔV_{L-S} en plantas control mantenidas en condiciones estables por cerca de 80 minutos (Fig. 2).

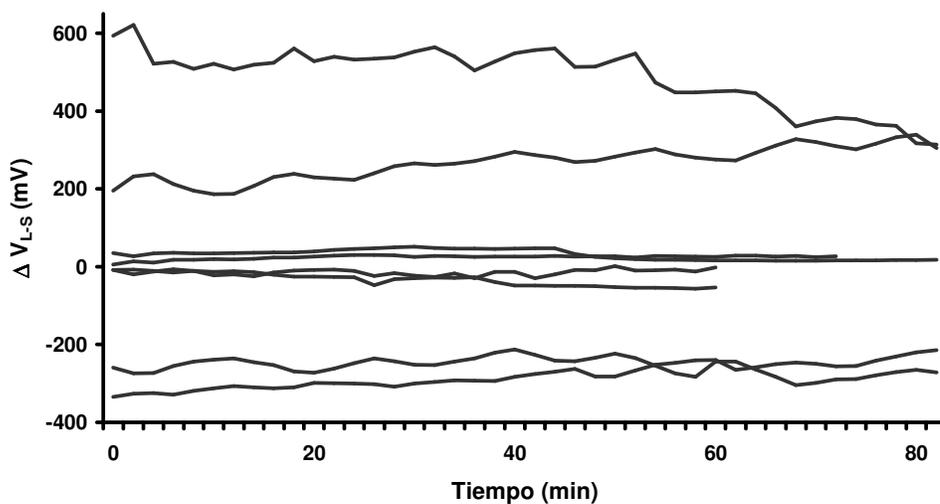


Figura 2: Diferencias de voltaje entre pecíolo de hoja y base del tallo (ΔV_{L-S}) en 8 plantas control dentro de 80 minutos.

Plantas sometidas a desecamiento radical y rehidratación.

El tratamiento de desecamiento radical produjo un cambio estadísticamente significativo en ΔV_{L-S} (Diferencia de Voltaje) comparado con el control. Un desecamiento de suelo de sólo -1.3% resultó en una significativa disminución ($P \leq 0.05$) de ΔV_{L-S} (-214.3 mV) luego de 52 minutos. Por su parte, la aplicación de agua al suelo provocó un aumento de 85.3 mV en ΔV_{L-S} luego de 32 minutos desde la aplicación, pero esta diferencia no fue significativa ($P > 0.05$) al control (Tabla 1 y Fig. 3). Ambos tratamientos provocaron cambios en la conductancia estomática (Tabla 2), medición que a menudo se relaciona directamente con la apertura o cierre estomático (Cowan, 1972, Tinoco-

Ojanguren and Pearcy, 1992, Buckley et al., 2003). Sin embargo, sólo existe una pequeña correlación directa ($R=-0.56$, $P < 0.05$) entre el cambio de ΔV_{L-S} y la diferencia de conductancia estomática medida antes y después del tratamiento de desecamiento de suelo (Datos no mostrados).

Tabla 1: Efecto del desecamiento y mojamiento de suelo en la diferencia de voltaje entre raíz y hoja en plantas de palto.

Tratamientos	Voltaje inicial (mV)	Voltaje máxima diferencia (mV)	de Tiempo de ocurrencia voltaje máxima diferencia (min)	Diferencia de voltaje de (mV)
Control	27.3	21.1	58.0	-6.2 (a)
Desecamiento	436.8	222.5	52.0	-214.3 (b)
Mojamiento	77.4	162.6	32.0	85.3 (a)

Cada valor de diferencia de voltaje representa la media ($n = 8$ plantas). El ΔV_{L-S} de máxima diferencia se encuentra relacionado con el valor inicial de de la curva de voltaje para cada repetición dentro de 80 minutos. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos (ANOVA de una vía y test de Tukey).

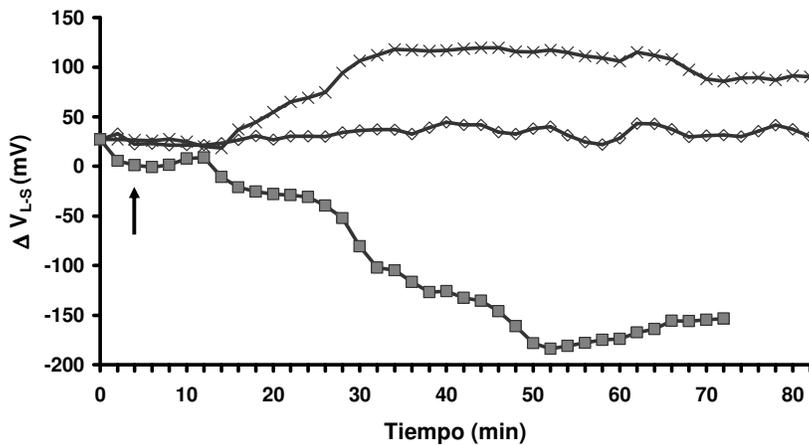


Figura 3: Efecto de los diferentes tratamientos en ΔV_{L-S} (mV). Cada dato representa la media ($n= 8$). \diamond Control, \times Mojamiento, \square Desecamiento. La flecha indica el momento de inicio de los tratamientos.

Tabla 2: Diferencias de conductancia estomática luego de que los tratamientos de desecamiento de suelo y rehidratación fueran impuestos.

Treatments	Δg_s ($cm\ s^{-1}$)
Desecamiento de suelo	-0.021 ± 0.03

Ambos tratamientos tuvieron un efecto en la conductancia estomática. Números positivos para el tratamiento de mojado de suelo indican que los estomas se abrieron, mientras que diferencias negativas para el tratamiento de desecamiento de suelo indican cierre estomático. Los valores representan la media ± Error Standard (n = 8).

Cambios ambientales generan potenciales bioeléctricos en plantas (Datta and Palit, 2004). En este estudio con *Persea americana* Mill., la forma, magnitud y duración de ΔV_{L-S} depende del estímulo. En plantas control que no recibieron estimulación ambiental repentina, los cambios en ΔV_{L-S} fueron pequeños y no significativos. Sin embargo, un desecamiento de raíces resultó en una disminución importante y significativa de ΔV_{L-S} luego de una pequeña disminución del contenido de humedad gravimétrica en el suelo (-1.3%). Cambios similares en señales eléctricas fueron reportados por Fromm and Fei (1998). El desecamiento de suelo significó un cambio en el ΔV_{L-S} el cual fue observado dentro de 28 a 56 minutos luego de que el desecamiento con aire forzado se iniciara, con un cambio promedio de ΔV_{L-S} de -214.3 mV, lo que corresponde a un cambio de 96.3% de variación con respecto al valor inicial. Luego, como resultado de un estrés en la planta inducido por una disminución del contenido de agua en el suelo, se observó una modificación significativa de potenciales de variación u ondas lentas de potencial, los que serían transmitidos a velocidades de 2.4 cm min⁻¹ o 144 cm h⁻¹. La modificación de ΔV_{L-S} se correlaciona positivamente aunque en forma moderada con la reducción de la conductancia estomática, sugiriendo que podría ser una relación de causa y efecto entre ambos procesos.

Los resultados aquí mostrados demuestran la existencia de una diferencia de potencial eléctrico entre raíces y brotes de palto, que puede ser medido y relacionado con el contenido de humedad del suelo. La respuesta al desecamiento del suelo fue una disminución en el voltaje, mientras que la respuesta al mojado radical fue un aumento de éste. Entonces, existe un potencial de uso de las diferencias de voltaje entre raíces y hojas como técnica de fitomonitorio para medir la respuesta de la planta al contenido de agua en el suelo. Es importante tomar en cuenta que este estudio es un primer paso para la determinación de la existencia de tales señales en palto y si ellas son factibles de ser medidas. El equipo de laboratorio utilizado en este estudio es muy sofisticado para ser utilizado a nivel de campo, por lo que el desarrollo de una técnica de fitomonitorio práctica basada en este concepto requiere de un refinamiento de la instrumentación para su uso en terreno. Además es necesario de mayor estudio para relacionar la magnitud de esta señal al contenido de agua en el suelo para un rango amplio de humedad y condiciones edáficas y ambientales variables. Sin embargo, este estudio sugiere que el desarrollo de una técnica de fitomonitorio práctica para la medición del estatus hídrico de la planta basada en la diferencia de potencial eléctrico entre raíces y hojas es muy posible.

Agradecimientos

Agradecemos al Sr. Hernán Villalobos (Vivero Huerto California, Quillota, Chile) por proveer parte de las plantas clonales utilizadas en este estudio. Agradecemos también al Dr. Juan Pablo Martínez (INIA, Chile) por ayudar a mejorar este artículo con sus comentarios editoriales y también agradecemos a la Sra. Paulina Arias por su ayuda en el transcurso del trabajo realizado en el Laboratorio de Neurobiología de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

4. REFERENCIAS

Buckley T., Mott K., Farquhar G. 2003. A hydro mechanical and biochemical model of stomatal conductance. *Plant Cell Environ.* 26:1767-1785.

Cowan I. 1972. Oscillations in stomatal conductance and plant functioning associated with stomatal conductance: Observations and a model. *Planta* 106:185-219.

Datta P., Palit P. 2004. Relationship between environmental factors and diurnal variation of bioelectric potentials of an intact jute plant. *Curr. Sci.* 87:680-683.

Gurovich L., Ton Y., Vergara L. 2006. Irrigation scheduling of avocado using phytomonitoring techniques. *Cien. Inv. Agr.* 33:117-124.

Fromm J., Eschrich W. 1993. Electric signals released from roots of willow (*Salix viminalis* L.) change transpiration and photosynthesis. *J. Plant. Physiol.* 141:673-680.

Fromm J., Fei H. 1998. Electrical signaling and gas exchange in maize plant in drying soil. *Plant Sci.* 132:203-213.

Gil P., Gurovich L., Schaffer B., Alcayaga J., Rey S., Iturriaga R. 2007. Root to leaf electrical signaling in avocado in response to light and soil water content. *J. Plant Physiol* (In review).

Lahav E., Whiley A.W. 2002. Irrigation and mineral nutrition. In: *Avocado: Botany, Production and Uses*, A.W. Whiley, B. Schaffer and B. N. Wolstenholme (eds.). CABI Publishing, Wallingford, UK.

Mishra N., Mallick B., Sopory S. 2001. Electrical signal from root to shoot in *Sorghum bicolor*: induction of leaf opening and evidence for fast extracellular propagation. *Plant Sci.* 160:237-245.

Prive J.P., Janes D. 2003. Evaluation of plant and soil moisture sensors for the detection of drought stress in raspberry. *Acta Hort* 618:391-396.

Raviv M., Lieth J., Wallach R. 2001. The effect of root-zone physical properties of coir and UC mix on performance of cut rose (cv Kardinal). *Acta Hort* 554:231-238.

Tinoco-Ojanguren C., Pearcy R. 1992. Dynamic stomatal behavior and its role in carbon gain during light flecks of a gap phase and an under story *Piper* species acclimated to high and low light. *Oecologia* 92:222-228.

Whiley A.W. 1994. Ecophysiological studies and tree manipulation for maximisation of yield potential in avocado (*Persea americana* Mill.). Ph.D thesis, Dept of Horticultural Science, University of Natal, Pietermaritzburg, South Africa.

Whiley A.W., Chapman, K.R., Saranah J.B. 1988a. Water loss by floral structures of avocado (*Persea americana* Mill.) cv. Fuerte during flowering. *Aust. J. Agric. Res.* 39:457-467.

Whiley A.W., Saranah J.B., Cull B.W., Pegg K.G. 1988b. Manage avocado tree growth cycles for productivity gains. *Queensland Agric. J.* 114:29–36.