

IDENTIFICACIÓN DE VARIEDADES DE PAPA (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) TOLERANTES A SEQUÍA Y ALTAS TEMPERATURAS, MEDIANTE MÉTODOS ANATÓMICOS Y FISIOLÓGICOS

Alfredo Morales Rodríguez, Alfredo Morales Tejón, Dania Rodríguez del Sol y Dayana Rodríguez Gonzales.

RESUMEN

En los últimos 10 años las áreas dedicadas al cultivo de la papa en Cuba, han disminuido un 58 % y en ese mismo período los rendimientos han disminuido un 21 %. Disponer de variedades de papa tolerantes a la sequía y altas temperaturas es un factor clave para incrementar la producción y el rendimiento bajo las condiciones de estrés, objetivo que pudiera lograrse en un programa de mejoramiento genético, sobre todo si se dispusiera de progenitores con características anatómicas y fisiológicas relacionadas con la tolerancia a la sequía y altas temperaturas. Los experimentos fueron desarrollados en el Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). Se evaluaron en condiciones de campo cuatro variedades de papa (Atlas, Armada, Everest y Maranca). Se determinaron los índices siguientes: densidad e índice estomático, área estomática, índice de esclerofilia, grado de succulencia y termo-estabilidad de la membrana celular. Tanto por el haz como por el envés la variedad Atlas posee los menores valores de densidad estomática 102,77 y 322,22 respectivamente. El mayor índice de esclerofilia en las hojas lo posee la variedad Atlas, con 49,65 mg/cm², además es la variedad que menor porcentaje relativo de daño a la membrana celular mostró con: 0,4, 59 y 66,5 % a 40, 60 y 80 °C respectivamente.

Palabras claves: papa, variedades, tolerantes, sequia, altas temperaturas

Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales, Cuba.

fisiologia@inivit.cu

Identification of tolerant varieties potato (*Solanum tuberosum* L.) to drought and high temperatures, by means of anatomic and physiological methods.

ABSTRACT

In the last 10 years, the areas dedicated to the potato in Cuba, decreased in a 58 % and the yield in a 21 % in that same period. To have tolerant varieties of potato to the drought and high temperatures is a factor key to increase the production and yield in conditions of stress, objective that we can obtained in a plant breeding program whit progenitors with anatomic and physiological characteristics related with the tolerance to drought and high temperatures. Experiments were developed at Research Institute of Tropical Root and Tuber Crops (INIVIT). Four varieties of potato were evaluated in farm conditions (Atlas, Armada, Everest and Maranca). Were determined the following index: Density and estomatic index, estomatic area, index of esclerofilia, degree of succulence and thermos-stability of the cell membrane. Atlas variety show the lower averages values of density estomatic 102.77 and 322.22 respectively. Esclerofilia's bigger index is in Atlas variety, with 49.65 mg/cm², besides is the variety that minor relative percentage of damage evidenced to the cell membrane with: 0.4, 59 and 66.5 % to 40, 60 and 80 °C respectively.

Key words: potato, varieties, tolerant, drought, high temperatures

INTRODUCCIÓN

La sequía y las altas temperaturas son algunos de los efectos tangibles del calentamiento global (Zarafshar *et al.*, 2014). El crecimiento de las plantas es gravemente afectado por la combinación de estos factores medioambientales. Desde el punto de vista de la agricultura tales factores se encuentran entre los más importantes que causan pérdidas sustanciales e impredecibles en la producción de los cultivos (Prabha y

Kumar, 2014).El desarrollo del estrés en las plantas es una consecuencia común por la indisponibilidad de agua en las células en condiciones tales como sequía y temperaturas extremas (Sperdoulis Moustakas, 2012).La respuesta de las plantas frente al estrés depende de varios factores tales como la etapa de desarrollo, la severidad, la duración de estrés y la genética del cultivar (Beltranoy Ronco, 2008).

Las variedades de papa que se plantan en Cuba son procedentes principalmente de Europa y Canadá, o sea, son variedades adaptadas a climas fríos y no a las condiciones tropicales. En los últimos 10 años las áreas dedicadas a este cultivo han disminuido un 58 % (áreas sembradas actuales, 6000 ha) y en ese mismo período los rendimientos han disminuido un 21 % (rendimiento actual de 18 t/ha), debido principalmente al aumento de la temperatura media del país.

El menor número de estomas, el alto grado de succulencia y esclerofilia en la hoja son algunos de los índices que se han propuesto para la selección de genotipos tolerantes a la sequía y la termo-estabilidad de la membrana celular para la selección de tolerancia a las altas temperaturas (Prabha y Kumar, 2014).

Disponer de variedades de papa tolerantes a la sequía y altas temperaturas es un factor clave para incrementar la producción y el rendimiento bajo las condiciones de estrés, objetivo que pudiera lograrse en un programa de mejoramiento genético, sobre todo si se dispusiera de progenitores con características anatómicas y fisiológicas relacionadas

con la tolerancia a la sequía y altas temperaturas.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Los experimentos fueron desarrollados en el Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), durante los meses de enero a marzo del 2015. Se evaluaron en condiciones de campo cuatro variedades de papa (Atlas, Armada, Everest y Maranca) importadas desde Europa. Cada parcela estuvo formada por cuatro surcos con un área total de 18 m² de ellas 36 en el área de cálculo.

Índice y Densidad estomática

Cuando la plantación alcanzó la edad de 40 días se colectaron 10 folíolos intermedios de la hoja número cuatro en sentido basípeto. Las impresiones epidermales de hojas se tomaron fácilmente aplicando esmalte comercial de uñas a la sección central de la hoja, luego de secarse el esmalte se pegó encima cinta adhesiva para despegar la impronta, pegando luego la cinta en un porta objeto.

Los preparados fueron fotografiados con una cámara digital Sony (Cyber-shot, Carl Zeiss), montada sobre un ocular del microscopio Carl Zeiss (Axiolab,

Alemania). Se fotografiaron un total de 10 campos por hojas tanto por el haz como por el envés, para un área de conteo de 0,3 mm² por cara de la hoja y 3 mm² fue el área de conteo total por variedad por cara de la hoja.

El conteo de los estomas y células epidérmicas típicas para la determinación del Índice y Densidad estomática se realizó con el software para análisis de imagen Image-Pro Plus 4.5. Se evaluaron en condiciones de campo cuatro variedades de papa (Atlas, Armada, Everest y Maranca) se calculó a través de la siguiente fórmula sugerida por Wilkinson (1979):

$$IE = \frac{NE \times 100}{CE + NE}$$

Donde:

IE: Índice estomático

NE: número de estomas por campo de observación

CE: número de células epidérmicas típicas por campo de observación

La densidad estomática para 1 mm² se obtuvo por la siguiente fórmula:

$$DE = \frac{NE}{AC}$$

Donde:

DE: Densidad estomática

NE: número de estomas por campo de observación

AC: área (mm²) del campo de observación

Para promediar la DE de las hojas se utilizó la siguiente ecuación:

$$DEP = \frac{DES^2 + DEI^2}{DES + DEI}$$

Donde:

DEP: Densidad estomática promedio

DES: Densidad estomática superior

DEI: Densidad estomática inferior

El área estomática se determinó midiendo el área de los estomas cerrados, utilizando el software anteriormente mencionado.

Índice de esclerofilia y Grado de succulencia

El índice de esclerofilia (IE) se determinó extrayendo 30 discos de hojas separándolos en grupos de cinco discos (seis grupos), colocando estos discos en la estufa a 70 °C durante 48 h.

Para determinar el grado de succulencia (GS) se extrajeron la misma cantidad de discos que para el índice anterior,

separados igualmente en seis grupos de a cinco discos, estos se colocaron en frascos plásticos pequeños, cada uno con 30 ml de agua desionizada. Se colocaron en la oscuridad a 4 °C durante 24 h. Pasado este tiempo se secó el exceso de agua de los discos y fueron pesados en una balanza digital Sartorius. De esta manera se determinó el peso en turgencia de los discos foliares.

Para ambos índices se utilizaron las formulas sugeridas por Almadi y Kowács (1986):

IE = Peso seco de la hoja (g)/área de la hoja (cm²)

GS = Contenido de agua de la hoja turgente (g)/área de la hoja (cm²), en el grado de succulencia (GS)

Termo-estabilidad de la membrana

Se midió la tolerancia al calor mediante la prueba de termoestabilidad de la membrana celular (TMC) siguiendo el procedimiento descrito por Bajji *et al.* (2001). Se tomaron 20 discos de tejido foliar de 1,4 cm², de la hoja número 4, contando en sentido basipetálico. Los discos fueron extraídos entre las 8:00 am las 10:00 am, colocados inmediatamente

en tubos de ensayo, donde se lavaron tres veces en agua desionizada para eliminar los electrolitos liberados al momento del corte. Se hicieron cuatro grupos de cinco discos de tejido de hoja con tres repeticiones, un grupo para el control y el otro para el tratamiento de calor. Después del lavado se agregaron 30 ml de agua desionizada a cada tubo y se cubrieron con papel aluminio para evitar la desecación y la evaporación durante el tratamiento de calor. El tratamiento de calor se hizo en un baño de maría manteniendo el control a una temperatura de 25 ±1°C por una hora y los tratamientos a temperaturas de 40, 60 y 80 °C.

Terminado el tratamiento de temperatura se dejó reposar en un refrigerador a 10°C por 24h para permitir la difusión de electrolitos. Posteriormente se extrajeron del refrigerador y las muestras se dejaron reposar a temperatura ambiente por 1h a 25°C y se hicieron lecturas de conductividad eléctrica (CE) con un Digital Conductivity Meter (VWR modelo CRB-10M con compensación de temperatura automática). Los tubos de ensayo se introdujeron en una autoclave (Felisa Modelo FE-399; Zapopan, Jalisco, México) a 121 °C durante 15 min a una presión de 0,10MPa para matar

completamente el tejido y liberar todos los electrolitos. Se dejó reposar el tejido a 25°C durante 1h y se realizó la segunda lectura de la CE.

El porcentaje relativo del daño a la membrana celular (DMC%), como indicador de la termo-estabilidad de la membrana celular (TMC) se calculó:

$$DMC = \frac{1 - (T1/T2)}{1 - (C1/C2)} \times 100$$

Donde:

DMC: daño a la membrana celular

T1: tratamiento antes de introducirse a la autoclave

T2: tratamiento después de haberse introducido a la autoclave

C1: testigo antes de introducirse a la autoclave

C2: testigo después de haberse introducido a la autoclave

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la cara abaxial de la hoja (haz) las variedades Atlas y Armada presentan los menores valores de IE, 12,47 y 13,26 respectivamente. En la cara abaxial (envés) de las hojas las variedades Maranca y Atlas poseen los menores valores de IE, 21,45 y 23,99 respectivamente (Figura 1). La menor DE es una característica que se asocia a una mayor tolerancia al estrés hídrico y a una mayor eficiencia en el uso del agua (Liu *et al.*, 2012).

Tanto por el haz como por el envés la variedad Atlas posee los menores valores de densidad estomática 102,77 y 322,22 respectivamente, o sea tiene el menor número de estomas por mm² de hoja (Figura 2). El tamaño de los estomas está frecuentemente correlacionado con su densidad; hojas con estomas pequeños presentan alta densidad estomática y hojas con estomas grandes, una baja densidad estomática.

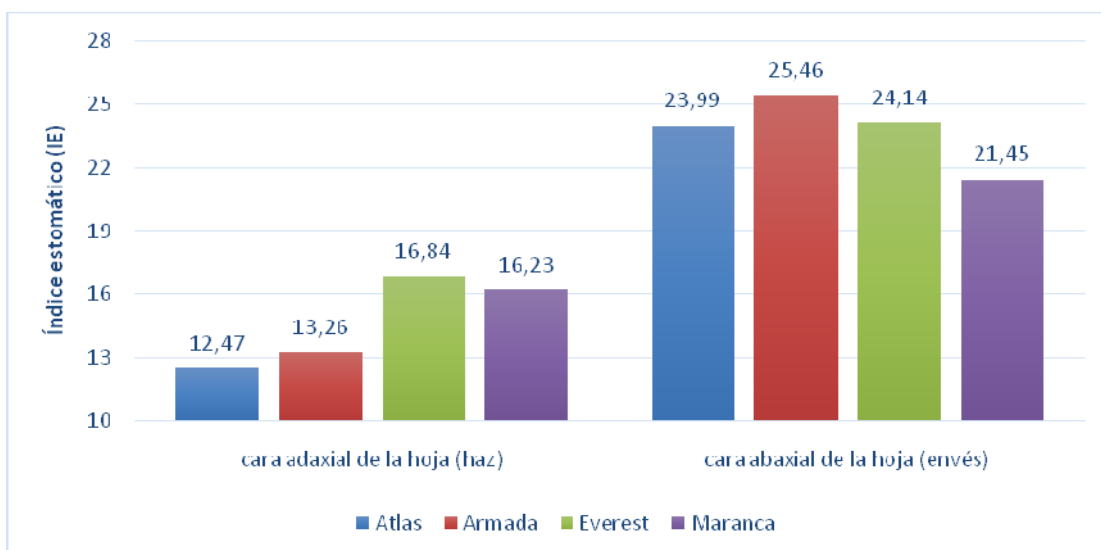


Figura 1. Índice estomático (IE) de cuatro variedades de papa en ambas caras de la hoja (haz y envés).

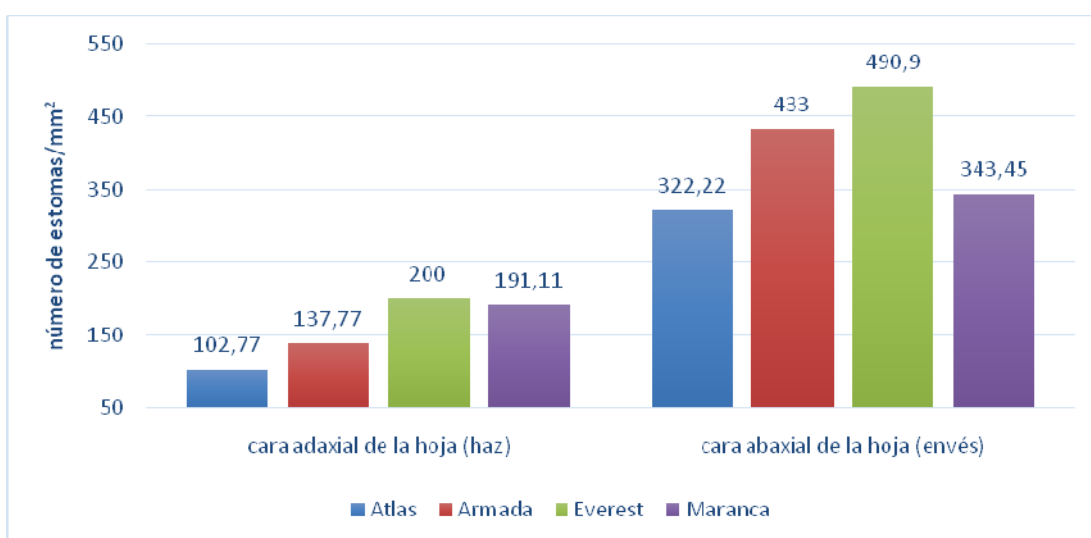


Figura 2. Densidad estomática (DE) de cuatro variedades de papa en ambas caras de la hoja (haz y envés).

La densidad estomática promedio (DEP) nos indica el número promedio de estomas en una sección de la hoja al tener en cuenta ambas caras (haz y envés) de la hoja. Las variedades con menor densidad estomática promedio son las Atlas y Maranca con 269,14 y 288,98 estomas/ mm² de hoja respectivamente. Por el contrario las variedad Everest y Armada son las que poseen los mayores valores de DE, con 406,69 y 359,22 respectivamente (Figura 3).

A pesar de existir gran diferencia entre el número de estomas por variedad, no existe una diferencia marcada entre el área estomática. Esto se debe a que las variedades con mayor número de estomas (Everest y Armada) compensan ese alto valor al reducir el tamaño de sus estomas (Figura 4). Según Gabriel *et al.* (2011) las variedades de papa más resistentes a la sequía presentan valores bajos de área estomática, por otra parte los valores altos corresponde a las variedades más susceptibles.

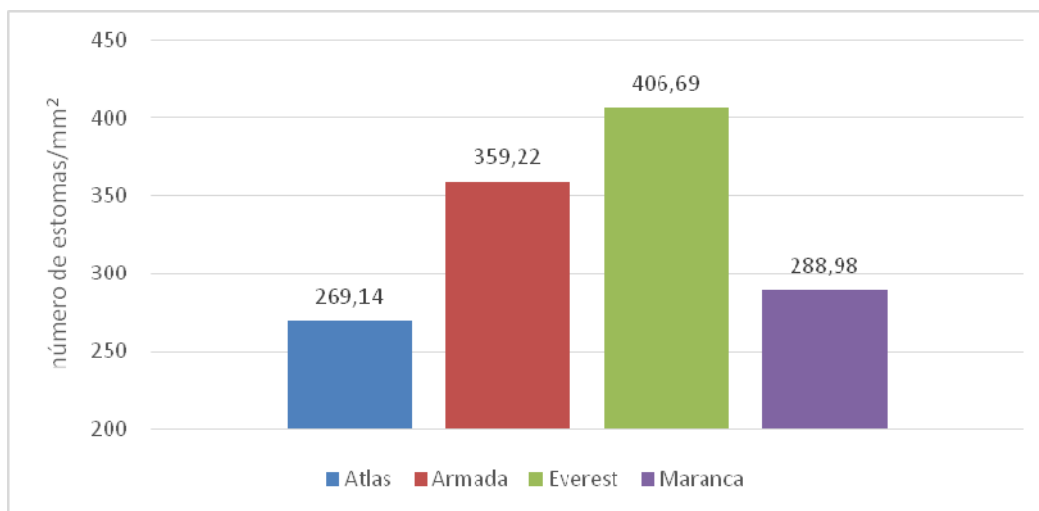


Figura 3. Densidad estomática promedio (DEP) de cuatro variedades de papa.

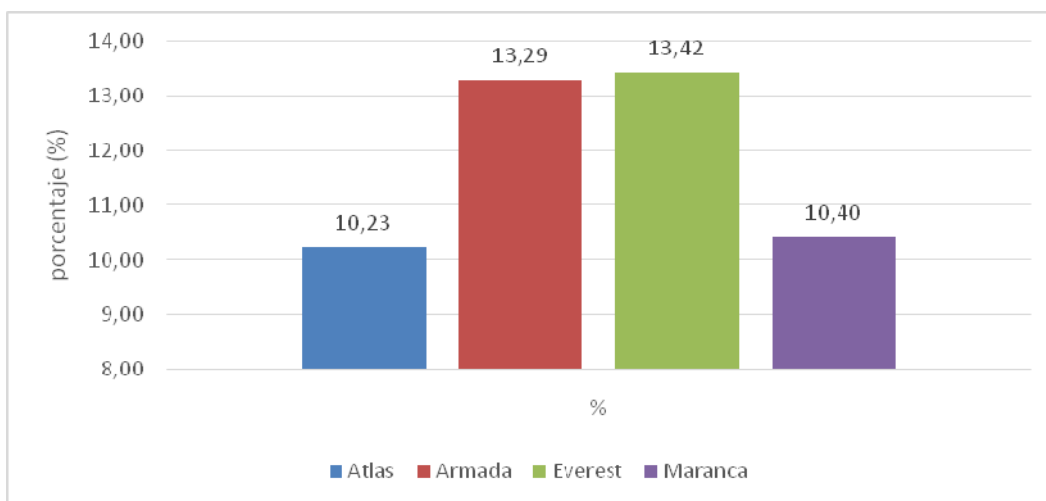


Figura 4. Área estomática (AE) por mm² de cuatro variedades de papa, representada en porcentaje.

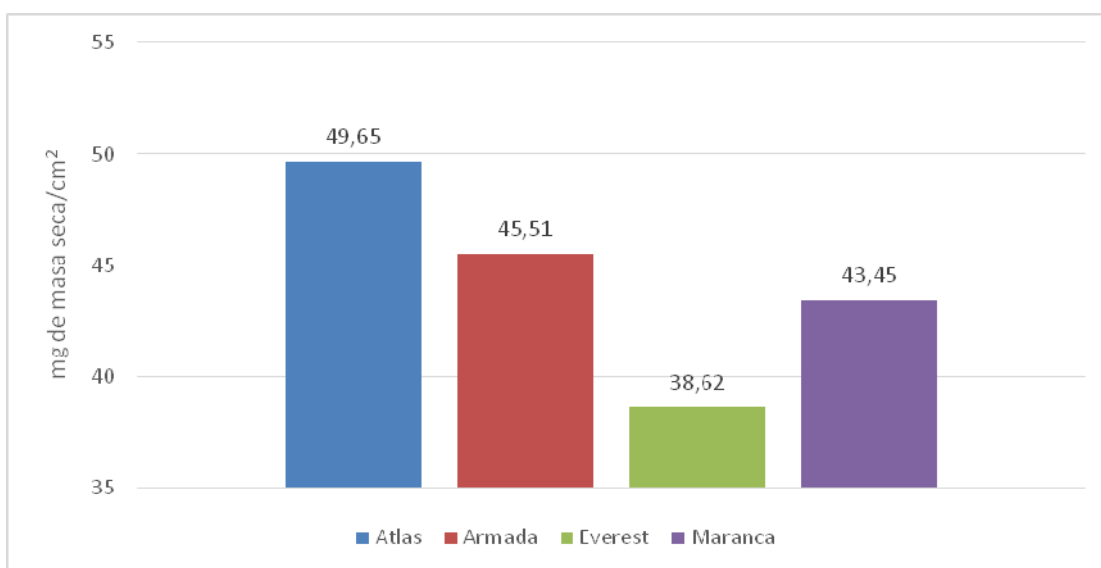


Figura 5. Índice de esclerofilia (IE) de las hojas de cuatro variedades de papa.

El mayor índice de esclerofilia registrado fue en las hojas de la variedad Atlas, con

49,65 mg/cm², o sea, que las hojas que mayor masa seca poseen por unidad de

área foliar son las de la variedad Atlas (Figura 5).

Por el contrario la variedad Everest es la que menor índice de esclerofilia posee, con solo 38,62 mg/cm². Las variedades más tolerantes a la sequía tienen índices mayores y esto es un reflejo para mantener irrigado el parénquima foliar y por ende sufrir menos deshidratación.

El grado de succulencia (GS) expresa el contenido de agua de las hojas por unidad de área foliar. Al igual que en el índice anterior la variedad Atlas se repite con el mayor grado de succulencia en sus hojas, con 45,51 mg/cm² (Figura 6). Las variedades con mayores valores de succulencia en sus hojas tienen gran capacidad para retener el agua y en eso radica su tolerancia a la sequía.

Las membranas celulares son el blanco principal del daño por las altas temperaturas, su integridad es alterada y como consecuencia un incremento en la permeabilidad acompañado de la pérdida de electrolitos de la célula (Habibpor *et al.*, 2011). Por consiguiente la termo-estabilidad de la membrana celular en condiciones de altas temperaturas puede ser considerada un importante indicador de resistencia al estrés.

De las cuatro variedades estudiadas la que menor porcentaje relativo de daño a la membrana celular mostró fue Atlas con 0,4, 59 y 66,5 % a 40, 60 y 80 oC respectivamente. Por el contrario la variedad Everest fue la más susceptible a las altas temperaturas, teniendo en los tres tratamientos los más altos valores de porcentaje relativo de daño a la membrana celular (Figura 7).

CONCLUSIONES

- Las variedades con menor densidad estomática promedio son Atlas y Maranca con 269,14 y 288,98 estomas por mm² respectivamente.
- El mayor índice de esclerofilia en las hojas lo posee la variedad Atlas, con 49,65 mg/cm².
- La variedad Atlas es la que mayor grado de succulencia tiene en sus hojas, con 45,51 mg/cm².
- La variedad que menor porcentaje relativo de daño a la membrana celular mostró fue la Atlas, con 0,4, 59 y 66,5 % a 40, 60 y 80 oC.

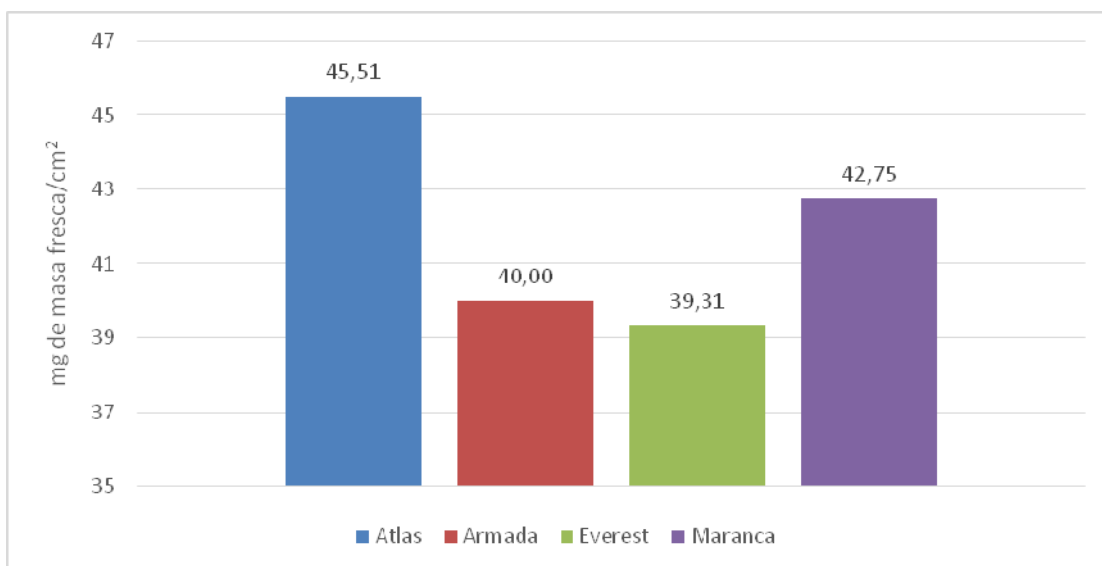


Figura 6. Grado de succulencia (GS) de las hojas de cuatro variedades de papa.

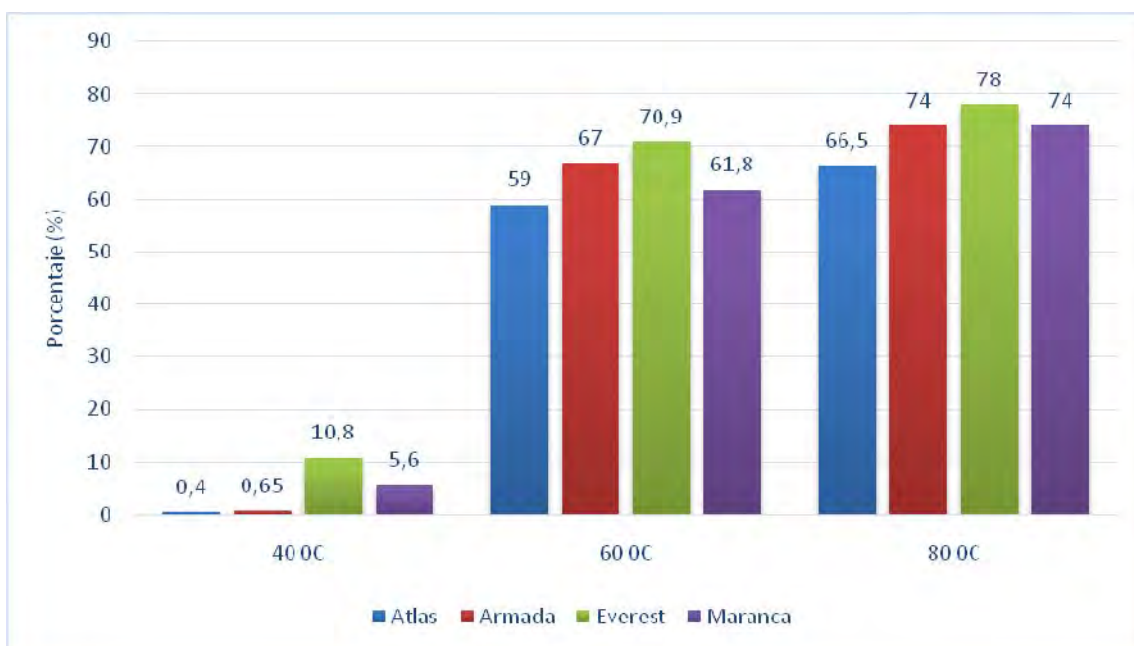


Figura 7. Porcentaje relativo de daño a la membrana celular (DMC %) en cuatro variedades de papa a diferentes temperaturas (40, 60 y 80 °C).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almadi, L. y Kowács L. (1986): The relationship between the transpiration and photosynthesis of xerophytic grasses abstracta botanic. Edit. Maszaros Draskowts, Rózsa and Kalopos. 10: 1-16.
- Bajji, M., J.M. Kinet and S. Lutts. (2001). The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulation*, 00: 1-10.
- Beltrano, J., Ronco, G. M. (2008). Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum*: Effect on growth and cell membrane stability. *Braz. J. Plant Physiol.*, 20(1):29-37.
- Gabriel, J., Porco, P., Angulo, A., Magne, J. La Torre, J., Mamani, P. (2011). Resistencia genética a estrés hídrico por sequía en variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) bajo invernadero. *Revista Latinoamericana de la papa*. Vol (16)2:173-208.
- Habibpor, M., Valizadeh, M., Shahbazi H., y Ahmadizadeh, M. (2011). Study of Drought Tolerance with Cell Membrane Stability Testing and Relation with the Drought Tolerance Indices in Genotypes of Wheat (*Triticum aestivum* L.). *World Appl. Sci. J.*, 13 (7): 1654-1660.
- Liu, J., Zhang, F., Zhou, J., Chen, F., Wang, B., Xie, X. (2012). Phytochrome B control of total leaf area and stomatal density affects drought tolerance in rice. *PlantMol. Biol.* 78: 289-300.
- Prabha, D., Kumar, Y.N. (2014). Seed Treatment with Salicylic Acid Enhance Drought Tolerance in Capsicum *World Journal of Agricultural Research*. Vol. 2(2): 42-46.
- Sperdoui, I. y Moustakas, M. (2012). Interaction of proline, sugars and anthocyanins during photosynthetic acclimation of *Arabidopsis thaliana* to drought stress. *J. Plant Physiol.* 169,577–585.
- Wilkinson, H. (1979). The plant surface (mainly leaf). In: C.R. Metcalfe y Chalk (eds.). *Anatomy of Dicotyledons*. Oxford Claredous Press. London, 97-165.

Zarafshar, M., Akbarinia, M., Askari, H.,
Mohsen, S.H., Rahaie, M., Struve,
D., Striker, G.G. (2014).
Morphological, physiological and
biochemical responses to soil

water deficit in seedlings of three
populations of wild pear tree
(*Pyrus boissieriana*). Biotechnol.
Agron. Soc. Environ. Vol. 18(3):3