

FOTOSINTESIS A ALTAS TEMPERATURAS EN TUBERCULOS DEL GENERO SOLANUM

1. INTRODUCCION

En el campo de la ciencia, uno de los retos es encontrar la forma de desarrollar plantas en ambientes en condiciones de estrés. Una importante aproximación a este trabajo es identificar los procesos fisiológicos relacionados con las condiciones de estrés que perjudican el desarrollo de la planta, para poder desarrollar procedimientos de apantallamiento (screening), que permitan obtener los cultivos mejor adaptados.

Es claro que todas las hojas fotosintéticas se inhiben a altas temperaturas en plantas no aclimatadas. De todas maneras, para muchas especies, no se sabe si las diferencias en el grado en el que la fotosíntesis es perjudicada a elevadas temperaturas, está casualmente relacionado con el desarrollo de la planta.

En la Fisiología existe un considerable interés en el estudio de las patatas, que crecen en condiciones tropicales, donde la temperatura del aire alcanza los 40°C, disminuyendo los cultivos.; la patata sufre la inhibición en su desarrollo, los elevados índices de respiración agotan los fotoasimiladores y la fijación de CO₂ desciende a estas elevadas temperaturas.

En el experimento realizado se llevó a cabo la medición a 40°C de las diferencias en el funcionamiento fotosintético entre pares de muestras de plantas; unas, tolerantes al calor (tolerancia al calor=heat tolerance) y otras sensibles al calor (sensibilidad al calor=heat sensitive), después de haberlas tratado durante 9 días a una temperatura de 30/40°C.

Mostraron efectos inhibitorios progresivos como un descenso de los índices de fijación de CO₂, pérdida de clorofila de las hojas, pérdida de clorofila de las hojas, deficiencia en la conductividad de los estomas, disminución de la concentración de CO₂ interna y una senescencia acelerada. Todos estos síntomas se intensificaron en el caso de las muestras de sensibilidad al calor .

Preparación de la investigación

-Tratamiento de apantallamiento

Se toman pares de muestras de tolerancia y sensibilidad al calor de 4 especies que mostraban un rango de tolerancia al calor determinado. El factor determinante para asignar límites de tolerancia, fue la habilidad para producir brotes.

Después de cuatro semanas a 14/35°C, las muestras no presentaban diferencias significativas con respecto a las muestras de control, pero a 30/40°C, todas las muestras presentaron un descenso en sus brotes en comparación con las de control, y los brotes fueron entre un 30% y un 70% menores en las de sensibilidad que en las de tolerancia. Además, las muestras de sensibilidad presentaron muchos más síntomas relacionados con el estrés producido por el calor:

- disminución en el tamaño de las hojas
- hojas enrolladas
- ángulos más agudos respecto al tallo
- síntomas de senescencia: clorosis y necrosis

Tratamiento de calor:

Se seleccionaron cuatro pares de muestras en base al estudio previo. Las plantas se aclimataron a 40/30°C en

cámaras de crecimiento durante 9 días.

Los niveles de fotosíntesis fueron más bajos a 40°C en las de sensibilidad que en las de tolerancia.

2. MATERIALES Y METODOS

- Condiciones de crecimiento

Las muestras seleccionadas que se han utilizado son:

SOLANUM Chacoense

SOLANUM Remisum

SOLANUM Stoloniferum

SOLANUM Bulbocastanum

Estas plantas crecieron a partir de semillas que se cultivaron en invernaderos a 20/30°C en recipientes de plástico de 14 cm.

Después de 6–9 semanas las plantas fueron transferidas a una cámara de crecimiento una semana antes de que el experimento comenzara.

La densidad de la luz fue de un flujo de fotones de 350 micromoles/ m² sg (luz PAR) y un régimen de temperatura entre el día y la noche de 25/20°C con un fotoperiodo de 14 horas.

Los índices de control de fotosíntesis se midieron a 25°C antes del tratamiento de calor y a 40°C posteriormente, en las mismas plantas.

EVOLUCIÓN DE OXÍGENO :

La evolución de oxígeno fue medida en discos de 3 cm en una hoja en régimen de saturación de dióxido de carbono y humedad usando unos electrodos específicos.

Los discos se cortaron del centro de hojas maduras y sanas que se localizaban al menos 6 nodos por debajo del nodo 1 (El nodo 1 se definió como el nodo con la hoja más joven).

La iluminación fue provista gracias a una fuente de halógeno–cuarzo que estaba preparada para eliminar el IR(radiación del Infrarrojo).

La intensidad de luz se variaba usando filtros con diferentes densidades.

Se fijaron distintas temperaturas :

Discos de control..... 25°C.

Tratamiento de calor..... 40°C.

CLOROFILA :

Clorofila a y b fueron medidas inmediatamente después de que los índices de evolución de oxígeno fueran

grabados, en los mismos discos de hojas.

Los pigmentos fueron extraídos rápidamente en un 90% de acetona.

Se leyeron usando espectrofotometría.

INTERCAMBIO DE GASES :

Se midió la fijación de carbono. Todas las medidas se hicieron en hojas maduras con una humedad relativa del 50% y con luz visible (PAR) de una lámpara de sodio.

La temperatura de las hojas se determinó a 25°C para el control y 40°C para las de tratamiento de calor.

En todos los casos la temperatura del aire variaba en al menos 2°C.

Las hojas fueron elegidas con el mismo criterio que para la evolución de oxígeno.

3. RESULTADOS :

EVOLUCIÓN DE OXÍGENO :

No se percibieron diferencias significativas entre las muestras de tolerancia y las de sensibilidad al calor a 25°C o 40°C y a una intensidad de luz de menos de 300 micromol/ m² sg de fotones. Sin embargo, si se observaron grandes diferencias con intensidades de más de 500 micromol/ m² sg de fotones.

En todos los casos una intensidad de luz de 200 micromol/ m² sg de fotones era adecuada para saturar índices de evolución de oxígeno sin ningún impedimento aparente.

Una intensidad de 500 micromol/ m² sg de fotones era la que las plantas de tolerancia y sensibilidad al calor mostraban las mayores diferencias.

Las muestras de tolerancia mostraban un incremento de rango importante en 3 días , mientras que las de sensibilidad no mostraban cambios.

Con una luz limitante (menor a 300 micromol/ m² sg de fotones), los índices de evolución de oxígeno no muestran descenso aparente antes del día 5. Después del día 5 las muestras de sensibilidad al calor experimentan un descenso de rangos, mientras que las de tolerancia al calor tenían los mismos que las de control.

Los índices máximos de evolución de oxígeno fueron medidos a 40°C después de 1 a 3 días de tratamiento de calor. Promediaron un 45% menos para una muestra de sensibilidad al calor.

A lo largo del experimento se observó que las hojas más jóvenes de muestras de sensibilidad al calor mostraban efectos menos pronunciados al tratamiento de calor que lo hacían las maduras.

Los índices de evolución de oxígeno medidos en las hojas más jóvenes de sensibilidad al calor eran iguales a los encontrados en las hojas maduras de las muestras de tolerancia.

INTERCAMBIO DE GASES.

Después de dos o tres días de tratamiento de calor a 30/40° C, los rangos de fijación de carbono por área de hoja midieron a 40° C y 50 % de humedad relativa, 45% menos para las muestras de sensibilidad al calor de la

Chacoense que para las muestras tolerantes. Se dio una diferencia similar pero más pequeña (27%) entre las muestras de sensibilidad al calor y tolerancia al calor de la *Stoloniferum*.

El intercambio de gases en los estomas y la concentración de CO₂ interno fue menor para todas las especies a 40°C que a 25°C, y a 40°C los datos fueron menores para las muestras de sensibilidad al calor que para las de tolerancia al calor.

Los datos de intercambio de gases y concentración de CO₂ después de cinco días de someter a las muestras a temperaturas de 30/40° C fueron similares a los obtenidos los dos o tres primeros días de tratamiento. Bajo las mismas condiciones, los rangos de fijación del CO₂ permanecieron constantes para las muestras de tolerancia al calor y descendieron en un 60% en las sensibilidad al calor tras cinco días de tratamiento.

A 25°C y a 50% de humedad relativa no hay diferencias entre las muestras en cualquiera de las variables medidas pero los datos son mayores que a una temperatura de 40°C.

Para medir el efecto del déficit de presión de vapor sobre el intercambio de gases en los estomas y la fijación del CO₂ se experimentó con la especie *Chacoense* ajustando la humedad relativa a un 30% para los 25°C y a un 70% para los 40°C de modo que el déficit de presión de vapor del aire fuera comparable entre ambos tratamientos de temperatura.

Como resultado se produjo una reducción de la diferencia que había en el intercambio de gases medido a 25° C y a 40°C para las muestras de tolerancia al calor y sensibilidad al calor. En cuanto a la fijación del CO₂, la muestra de tolerancia al calor se comportó de forma similar a 25° C que a 40°C pero la muestra de sensibilidad al calor mostró un 33% de inhibición a 40°C.

CLOROFILA.

Se sometió a la especie *Chacoense* a temperaturas de 30/40°C durante nueve días y se produjeron cambios en el contenido de clorofila de la hoja y el ratio clorofila a/ clorofila b, que contribuyen a disminuir la actividad fotosintética de la planta.

En las muestras de sensibilidad al calor la clorofila disminuyó en más de un 50% tras nueve días de tratamiento de calor y aumento el ratio clorofila a/clorofila b de 4,5 a 7,7.

En las muestras más tolerantes el contenido de clorofila en la hoja sólo cayó en un 14% sin cambios significativos en el ratio clorofila a/ clorofila b.

4. CONCLUSIONES.

Los cuatro pares de muestras de tolerancia al calor y sensibilidad al calor usadas en el experimento fueron elegidas entre 59 especies. Algunas murieron a los pocos días de exponerlas a altas temperaturas mientras que otras crecieron en condiciones de estrés.

La aparente tolerancia al calor de las hojas jóvenes en la muestras de sensibilidad al calor sugieren que la sensibilidad al calor es una manifestación de senescencia acelerada. Las hojas de la especie *Tuberosum* muestran pérdidas de capacidad fotosintética con la edad, lo cual se acelera con las altas temperaturas.

A pesar de que las hojas jóvenes de sensibilidad al calor mostraran características de tolerancia al calor, se estima que éstas eran aproximadamente un tercio del total de hojas jóvenes.

- Tras 2 días a 40°C el CO₂ saturado en la evolución de O₂ era mucho mas bajo para las muestras de sensibilidad al calor que para las de tolerancia y los valores de fijación de CO₂ medidos a una luz muy

intensa para las muestras de sensibilidad al calor eran incluso nulos, comparados con las muestras de tolerancia.

Después de 4–5 días a 40°/30°C se hace visible la parición de un comportamiento de estrés en las muestras de sensibilidad al calor y hojas con clorofila comienzan a caerse. Al mismo tiempo los valores de clorofila a bajan hasta coincidir con los de clorofila b y los de O₂ con los que habría si la luz fuera limitada.

Entre el 5–9 día el gran decremento en los valores de fijación CO₂ se asemeja a una pérdida total de la clorofila de la hoja. Hacia el final del 9 día para las muestras de sensibilidad al calor aparecen síntomas de estrés equivalentes a los que observaríamos después de 3 semanas o más de calor en un invernadero.

En general se espera que los valores de fotosíntesis se incrementen con un aumento de temperatura como resultado de el efecto Q₁₀ (reacción mas rápida conforme añadimos 10°C). El valor máximo en la evolución de O₂ a 40°C en *S Chacoense* después de 3 días de calor, para las muestras de sensibilidad al calor era mucho mas bajo que el que presentaban plantas a 25°C e igual o un pelín mayor para las muestras de tolerancia .

Los valores a una luz intensa a T^a de estrés (40°C) para las muestras de sensibilidad al calor y tolerancia eran solo ligeramente mayores. El hecho de que no se observen valores mayores indica que la reacción de apertura de fotosíntesis se inhibe a 40°C y esto es aun más pronunciado para las muestras de sensibilidad al calor de las cuatro especies. Aunque la perdida de clorofila contribuye a disminuir la fotosíntesis de la hoja , las medidas normales de clorofila indican efectos que son independientes del contenido de clorofila de la hoja.

La adaptación metabólica puede haber contribuido a un aumento de la sensibilidad después de el tratamiento a 40/30°C. En las judías las muestras de tolerancia mostraba unos acompañados cambios en la composición de los lípidos de los tilacoides tras algunos días de exposición a una elevada temperatura.

A una luz intensa los valores de CO₂ saturado en la evolución de O₂ eran iguales o algo mayores por las muestras de sensibilidad al calor y tolerancia a 40° que a 25°. Por el contrario, los valores de fijación de CO₂ eran nulos. Estos datos suponen que la disponibilidad de CO₂, es el factor que determina las diferencias de fotosíntesis para las muestras de sensibilidad al calor y tolerancia a 40°C mas que la capacidad de la cadena de electrones o el ciclo de Calvin. Los bajos valores para el mecanismo de los estomas y el CO₂ interno a 40° en comparación con los medidos a 25°C muestran que las diferencias del mecanismo de los estomas entre las muestras de sensibilidad al calor y la tolerancia se deben a los diferentes valores de fijación de CO₂ incluso se observa que por las muestras de sensibilidad al calor requieren menos agua para el crecimiento a 30/40°C.

Esta establecido que el elevado déficit de presión de vapor el cual se produce a elevada temperatura, puede reducir la apertura de los estomas, e incluso hay estudios sobre la perdida de sensibilidad del movimiento de los estomas a alta temperatura.

Cuando las humedades relativas se ajustaban para mantener una similar deficiencia de presión de vapor a 25° y a 40°. los valores de fijación de CO₂ eran los mismos para las muestras de tolerancia en *S Chacoense* a ambas temperaturas, indicando que un incremento en la deficiencia de presión de vapor podría ser el principal factor en la disminución de fijación de CO₂ a 40° para las muestras de tolerancia por lo que disminuye la fotosíntesis. Varios estudios han demostrado la inhibición del Ciclo de Calvin como resultado de la inactivación de la RUBISCO a elevadas temperaturas, lo que podría justificar esa disminución en la fijación de CO₂ reducido, sin embargo la conclusión de que la influencia sobre los estomas contribuyen a la disminución de la fotosíntesis a elevada temperatura es contraria en especies como la patata. Si las limitaciones de los estomas están presentes, una obvia consecuencia por disminución de la concentración de CO₂ interno a elevada temperatura, sería el incremento en la fotorrespiración.

La pérdida de clorofila , era muy significativa en *S Chacoese* tras 5 días a 40/30°, sin embargo *S Estolonifer* no mostró estos efectos hasta el décimo día y muchas *S Solanum* mostraron Clorosis como consecuencia de estrés

ante la elevada temperatura pero no la mostraron especies salvajes de patata.

Todos estos datos y consecuencias en las diferentes especies, muestran que una alta temperatura en plantas no aclimatadas es nefasta para su desarrollo y crecimiento, no obstante, una elevada temperatura no provoca los mismos efectos en todas las especies; de hecho, es difícil conocer con total exactitud la temperatura óptima de cada especie, y las consecuencias en la actividad fotosintética, pueden variar significativamente de una especie a otra, al igual que la pérdida de clorofila o la cantidad de CO₂ fijado.