



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS

Estrés Hídrico y Térmico en Papas Avances y Protocolos



Editora:
María Teresa Pino

BOLETÍN INIA - Nº 331

Estrés Hídrico y Térmico en Papas Avances y Protocolos



Editora:
María Teresa Pino

INIA La Platina
Santiago, Chile, 2016

La presente publicación tiene como objetivo dar a conocer los avances en la evaluación del estrés hídrico y estrés térmico en papas a nivel mundial. Sistematizar en español y en forma divulgativa algunos resultados, protocolos de evaluación y medidas de mitigación publicados a partir de los proyectos CAMBIO CLIMÁTICO del MINAGRI CHILE (501364-50), FONDECYT (F111075021) y FONTAGRO-BID 8038 (RG-T1657-ATN/OC-11943) ejecutado por INIA Chile, INIA Uruguay y el Centro Internacional de la Papa (CIP).

Editora:

María Teresa Pino.

Editora de Textos:

Marisol González.

Revisores técnicos:

Sergio González, GIZ. Santiago.

Gerardo Tapia, INIA Quilamapu.

Manuel Pinto, INIA La Platina.

Gabriel Selles, INIA La Platina.

Alejandro Antúnez, INIA La Platina.

David Ramírez, CIP CGIAR.

Director Responsable:

Francisco Tapia F.,

Director Regional INIA La Platina.

Boletín INIA N° 331

Cita bibliográfica correcta:

Pino, M.T. 2016. Estrés hídrico y térmico en papas, avances y protocolos. Santiago, Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Boletín INIA N° 331. 148p.

© 2016. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA. Centro Regional de Investigación La Platina, Avda. Santa Rosa 11.610. Comuna La Pintana. Santiago, Chile. Casilla 439, Correo 3. Teléfono 56-22 577 9100, Fax: 56 22 577 9106.

ISSN 0717 – 4829

Autorizada sólo la reproducción total o parcial citando la fuente y/o autores.

Diseño y diagramación: Jorge Berríos V., Diseñador Gráfico.

Impresión: Salesianos Impresores S.A.

Cantidad de ejemplares: 300

Santiago, Chile, 2016.

AUTORES

María Teresa Pino

Ing. Agr. Ph.D.,
INIA La Platina, Chile.

Eung-Jun Park

M.Sc. Ph.D., Korea Forest
Research Institute,
South Korea.

Tony. H. H. Chen

M.Sc. Ph.D.,
Oregon State University,
Corvallis, OR 97331, USA.
(hasta 2015).

David A. Ramírez

Dr., Centro Internacional
de la Papa (CIP), Perú.

Philippe Monneveux

Ph.D., Centro Internacional
de la Papa (CIP), Perú.

Roberto Quiroz

Dr., Centro Internacional
de la Papa (CIP), Perú.

Sergio González

Ing. Agr. M.Sc., Deutsche
Gesellschaft fuer Internationale
Zusammenarbeit (GIZ).

Raymundo Gutiérrez

Ing. Agr. Mg., Centro
Internacional de la Papa (CIP)
hasta el año 2014.

Francisca Aguayo

Biol. Mol. M.Sc.,
INIA La Platina, Chile.

Carolina Salazar

Biol. Amb. M.Sc. Dr.,
INIA La Platina, Chile.

Paulina Romero

Ing. Dr. (c), INIA La Platina,
Chile y Doctorado en
Ciencias Silvo-agropecuarias.
Universidad de Chile.

Cristian Hernández

Ing. Agr. Mg.,
INIA La Platina, Chile.

Patricio Sandaña

Ing. Agr. M.Sc. Dr.,
INIA Remehue, Chile.

Julio Kalazich

Ing. Agr. Ph.D.,
INIA Remehue, Chile.

Marco Uribe

Tec. Agr.,
INIA Remehue, Chile.

Paulina Villagra

Ing. Agr. Mg., INIA La Platina,
Chile hasta el año 2013.

Alejandro Antúnez

Ing. Agr. Ph.D.,
INIA La Platina, Chile.

ÍNDICE

Prólogo _____	5	Capítulo 6. La emision de fluorescencia de la clorofila <i>a</i> : una herramienta para la detección del efecto del estrés hídrico en el aparato fotosintético de la papa _____	71
Capítulo 1. Desafíos del cultivo de papa frente al cambio climático _____	7	Capítulo 7. Relacion suelo-agua- planta y evaluaciones de estrés hídrico en papas _____	86
Capítulo 2. Efectos del estrés hídrico y de altas temperaturas en el cultivo de papa _____	16	Capítulo 8. Selección de genotipos de papas en función de los índices de tolerancia a sequía _____	106
Capítulo 3. Principales osmoprotectores envueltos en la respuesta a estrés hídrico y estrés térmico en papas _____	27	Capítulo 9. Mitigando los efectos de la sequía en papa: algunos alcances y retos _____	115
Capítulo 4. Principales genes asociados a los mecanismos de respuesta a estrés hídrico y térmico en papas _____	37	Capítulo 10. Efectos de las heladas en el cultivo de papa, y desafíos del mejoramiento genético _____	130
Capítulo 5. Intercambio gaseoso en papas bajo estrés hídrico y elevada concentración de CO ₂ en la atmósfera _____	58		

PRÓLOGO

El cambio climático a nivel mundial es una realidad a la cual Chile y otros países de la región esta afecta. En conjunto con el alza en las temperaturas promedios, también se proyectan cambios en las precipitaciones y mayor frecuencia en la ocurrencia de eventos climáticos extremos, como los son las heladas e inundaciones cada vez más impredecibles. En la agricultura, cualquier cambio en el régimen de las precipitaciones y en particular los periodos de sequía, afectarán negativamente a gran parte de los cultivos. Además, el proyectado aumento en la temperatura promedio entre 2°C y 4°C podría traer consecuencias negativas en áreas geográficas tradicionalmente cultivadas; aunque también, el cambio climático podría significar nuevas oportunidades para la agricultura con la incorporación de nuevos rubros posibles de cultivar o producir aumentos de rendimiento en algunos casos.

El cambio climático es muy relevante en la papa cultivada, por ser el cuarto cultivo en importancia a nivel mundial, y también el segundo en Chile, (y lo será más en el futuro cuando se sabe que la población mundial se incrementará a más de 9.000 millones de personas al 2050), es necesario determinar cuál sería el efecto del cambio climático en sus rendimientos y calidad. Se ha sugerido que mientras la sequía y las altas temperaturas disminuirían los rendimientos y la calidad de los tubérculos en algunos lugares de Chile y el mundo, contrariamente el alza de temperaturas podría aumentar los potenciales de rendimiento en regiones hoy más frías, lo que podría ocurrir también por aumentos en la tasa de fotosíntesis y del dióxido de carbono (CO₂).

Algunos estudios recientes sugieren que el cambio climático podría poner en riesgo incluso la supervivencia de germoplasma silvestre de papa en el altiplano sudamericano. Chile, como un sub centro de origen de este preciado tubérculo, y cuna de origen de la papa cultivada hoy en el mundo en días largos, puede jugar un rol muy relevante en la selección de variedades de papa tolerantes a varios de los estreses ambientales que está sufriendo ya el cultivo en diversas latitudes incluida la nuestra. Posteriormente es necesario poner a disposición de los programas de mejoramiento genético de este tubérculo en el mundo el germoplasma seleccionado con estas características, haciendo un importante aporte a la ciencia y al desarrollo de este cultivo. Indudablemente, la investigación también deberá poner acento en otros aspectos de mitigación de los efectos del cambio climático, como lo son el ajustar fechas de plantación para escapar tanto a temperaturas extremas como a la sequía estival, e implementar técnicas de riego altamente eficientes que permitan ahorrar al máximo este preciado recurso.

Esta publicación busca poner a disposición de los programas de mejoramiento genético y de los profesionales del área agrícola de Chile y otros países de la región, así como a estudiantes universitarios de pre y posgrado, información divulgativa respecto al efecto del cambio climático en el cultivo de la papa, protocolos de evaluación y medidas de mitigación.

Julio Kalazich Barassi
Director Nacional INIA Chile

DESAFÍOS DEL CULTIVO DE PAPA FRENTE AL CAMBIO CLIMÁTICO

*María Teresa Pino
Sergio González*

La papa cultivada (*Solanum tuberosum* L.) es el cuarto cultivo más importante a nivel mundial, luego del maíz, el arroz y el trigo. La producción mundial de papa supera los 350 millones de toneladas en una superficie de 19 millones de hectáreas (<http://www.potatopro.com/world/potato-statistics>). La papa es cultivada en 149 países, siendo China, India y Rusia los mayores productores a nivel mundial; en Latinoamérica, Perú es el principal productor, con 4.473.503 Ton (FAOSTAT, 2014). En Chile, la superficie cultivada con papa durante la temporada 2014/2015, alcanzó las 50.526 ha, mostrando una variación positiva de 3,2% respecto a la temporada anterior (ODEPA, 2015). Algunos datos estadísticos se presentan en la **Tabla 1.1**.

Tabla 1.1. Principales países productores de papas durante el año 2012 (FAOSTAT, 2014).

Ranking	País	Producción (t)
1	China	85.860.000
2	India	45.000.000
3	Federación Rusa	29.532.530
4	Ucrania	23.250.200
5	Estados Unidos de América	19.165.865
6	Alemania	10.665.600
7	Polonia	9.091.900
8	Bangladesh	8.205.470
9	Países Bajos	6.765.618
10	Francia	6.340.807

A pesar de su distribución en muy diferentes condiciones climáticas, extendiéndose desde los 65° Latitud Norte a los 54° Latitud Sur, la mayoría de los cultivares comerciales de papa de alto rendimiento requieren de climas más bien moderados y alta disponibilidad de agua (Hijmans, 2003). La papa cultivada requiere una temperatura de 20°C para crecer vegetativamente, mientras que la temperatura óptima para la tuberización está entre los 14 y 22°C. Temperaturas superiores pueden afectar el crecimiento y la calidad de los tubérculos, y se ha observado que temperaturas sobre los 30°C inhiben completamente la tuberización. Particularmente, las temperaturas nocturnas tienen una influencia crítica en la diferenciación de tubérculos y formación de almidón. Se ha observado que temperaturas nocturnas sobre los 22°C inhiben la tuberización (Hijmans, 2003; Kleinkopf *et al.*, 2003; Schafleitner *et al.*, 2007; Hancock *et al.*, 2014). El cultivo de papa es sensible al déficit hídrico, se desarrolla en óptimas condiciones con humedades entre 60 y 80% de capacidad de campo. La demanda hídrica está entre los 350 y 650 mm durante su pleno periodo de crecimiento vegetativo, dependiendo de la tasa de evapotranspiración y del cultivar utilizado (Sood y Singh, 2003).

EL CAMBIO CLIMÁTICO Y SU EFECTO EN LA DISTRIBUCIÓN DEL CULTIVO DE PAPA

Estudios del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre Cambio Climático IPCC (por su sigla en inglés, Intergovernmental Panel on Climate Change), muestran que, en conjunto con el alza en las temperaturas medias, también se proyectan cambios en las precipitaciones y en la frecuencia de ocurrencia de eventos climáticos extremos. De acuerdo a las proyecciones de las emisiones de gases de efecto invernadero, se proyecta que la temperatura media subiría entre 2°C y 4°C al final del presente siglo, mientras que el nivel del mar subiría entre 29 y 82 centímetros, producto del derretimiento de los hielos polares y de los glaciares, lo cual generaría graves consecuencias en la actividad agrícola y en la población. También, para latitudes medias y altas, se espera un incremento en las precipitaciones. Sin embargo, su distribución puede ser un problema porque tenderían a concentrarse en períodos más cortos y serían de mayor intensi-

dad. Mientras en zonas mediterráneas y tropicales se proyecta una disminución en las precipitaciones, en zonas áridas los periodos de sequía serían más frecuentes e intensos (IPCC, 2007; IPCC, 2013). En áreas impactadas por el fenómeno de “El Niño”, se ha notado que las fases de sequía están siendo más severas y las precipitaciones se concentran en cortos períodos, causando inundaciones y otros problemas. En Chile, el escenario climático al 2040, proyecta la intensificación de la aridez, avance del desierto hacia el sur, reducción de las precipitaciones en la zona central, aumento de precipitaciones en las zonas australes del país y mayor ocurrencia de eventos climáticos extremos, como heladas o inundaciones. Las proyecciones indican que se produciría un aumento de temperatura de hasta 4°C, mientras que las precipitaciones disminuirían en alrededor del 30% en la zona central (AGRIMED, 2008; MMA, 2014).

En Uruguay, se proyecta que los ciclos de sequías e inundaciones se acentúen, en conjunto con un aumento general de la temperatura. En el escenario futuro más pesimista, los científicos prevén una elevación de temperaturas de 1,5°C para 2050, sobre todo en el norte de este país. En Perú, por su parte, sobre el 70% de la población vive en zonas vulnerables al cambio climático y gran parte de ella se dedica a la agricultura; tanto la agricultura como la biodiversidad se verían seriamente afectados por eventos climáticos extremos. Un alza de temperatura de una tasa de 0,1°C al año, causaría el derretimiento del 40% de los glaciares en el Perú en los próximos 10 años. Según el Consejo Nacional del Medio Ambiente (CONAM), en 25 años el área de los glaciares andinos se redujo de 2.042 a 1.596 kilómetros cuadrados (Geng, 2007).

Los escenarios climáticos reportados por el IPCC indican que las concentraciones de dióxido de carbono (CO₂) en la atmósfera, aumentarían de las 385 partes por millón [ppm] a niveles que fluctuarían entre las 540 y 970 ppm para el año 2100 (IPCC, 2015). Algunos estudios sugieren que a mayores concentraciones de CO₂ se incrementaría la fotosíntesis en plantas C₃, como las papas. La tasa de fotosíntesis neta aumentaría entre 10% y 40% a elevada concentración de CO₂ (720 ppm), consecuentemente aumentarían el número de tubérculos por planta y el tamaño de los tubérculos,

sugiriendo un aumento en los rendimientos en 10% por cada 100 ppm de aumento de CO₂ (Katny *et al.*, 2005; Högy y Fangmeier, 2009). Sin embargo, esta mayor capacidad de asimilación de CO₂ que presentarían las plantas C3 estaría limitada por la disponibilidad de agua, porque las plantas cuando experimentan déficit hídrico, rápidamente cierran sus estomas limitando el intercambio gaseoso y la fotosíntesis. Asimismo, la mayor incidencia de plagas y enfermedades, detonada por el incremento térmico, podría neutralizar largamente este efecto en la productividad.

El cambio climático podría ser muy desfavorable para la agricultura, particularmente en áreas donde los cultivos crecen bajo condiciones límites de temperatura y/o de disponibilidad hídrica. La mayoría de los cultivos agrícolas dependen del agua y cualquier cambio en el régimen de precipitaciones y particularmente la ocurrencia de periodos de sequía afectaría a gran parte de los cultivos, siendo los sistemas productivos de secano los más vulnerables. Recientes estudios en papa cultivada indican que, mientras el calentamiento global en latitudes altas favorecería el cultivo, en regiones tropicales y subtropicales tendría un efecto negativo (Hijmans, 2003).

El calentamiento en latitudes medias y altas, permitiría extender la estación de crecimiento del cultivo de la papa, favoreciendo así su cultivo en países como Canadá y Rusia porque se podría adelantar la época de plantación y aumentar el número de ciclos en una temporada. Contrariamente, los países más cercanos a zonas tropicales serían más vulnerables para el cultivo de la papa, ya que los rendimientos se podrían reducir hasta en un 50%. De hecho, en estas últimas temporadas, la sequía y altas temperaturas han afectado a 130.000 hectáreas en Colombia, causando pérdidas del 50%. En Europa, se proyecta que los rendimientos aumentarían hacia el norte, se mantendrían estables hacia el oeste, disminuirían hacia el este y prácticamente el cultivo desaparecería hacia el sur, específicamente en zonas de Italia y Grecia. Particularmente, al norte de Europa, se espera un aumento en el tamaño del tubérculo y mayor porcentaje de materia seca, pero también se proyecta un periodo de post-cosecha más corto y mayor concentración de azúcares (Hijmans, 2003; FAO, 2015).

Por su parte, el Centro Internacional de la Papa (CIP) ha sugerido que el aumento sostenido de la temperatura está ejerciendo una alta presión de selección sobre las papas silvestres; cerca del 20% de ellas corre el riesgo de extinguirse para el año 2055. Asimismo, estudios del CIP en los últimos 10 años, basados en encuestas a productores de papas y en imágenes satelitales, revelan que, durante los últimos 30 años, los agricultores peruanos de las zonas andinas han tenido que trasladar sus cultivos hacia áreas de mayor altitud. Esto, con el objetivo de escapar del aumento de enfermedades y plagas, debido al alza térmica. Sin embargo, si el cambio climático sigue este ritmo, los productores de papas no tendrán tierras a mayor altitud donde cultivar (CIP, 2012). Así, en conjunto con cambios en las temperaturas, también se proyectan cambios en los ciclos de plagas y enfermedades. En papas, la incidencia del tizón tardío, vectores de virus y nemátodos se acentuaría. Por ejemplo, en Europa, se proyecta un ataque más temprano del tizón tardío, un aumento en el número de ciclos por temporadas para algunos nemátodos y mayor incidencia de áfidos. En Chile, también se observa este tipo de respuesta en el cultivo de papa.

El escenario del cambio climático a los próximos 50 años, sólo basado en los cambios de temperatura, proyectan que el cultivo de papa experimentaría una disminución de sus rendimientos, entre 18 y 33% si no se toman las medidas de adaptación necesarias frente al nuevo escenario. Sin embargo, estas pérdidas podrían ser significativamente menores - hasta en un 9% - si se implementan medidas de adaptación (Hijmans, 2003; Schafleitner *et al.*, 2011). La **Tabla 1.2** entrega información sobre el impacto que tendría el cambio climático con y sin medidas de adaptación.

La complejidad tanto de la respuesta fisiológica como molecular de las plantas y su capacidad de adaptación, podrían hacer pensar que las plantas tendrían la suficiente capacidad para adaptarse por sí mismas al cambio climático. Sin embargo, esto es poco probable porque su velocidad de adaptación se verá sobrepasada por la mayor velocidad a la que están ocurriendo los cambios climáticos. Asimismo, la capacidad de adaptación de las variedades comerciales altamente productivas, estaría limitada por su estrecha

Tabla 1.2. Variaciones proyectadas en el rendimiento potencial (%) de papas debido al cambio climático para el período 2040–2059 (Hijmans, 2003).

País	Sin adaptación	Con adaptación
China	-22,2	-2,5
India	-23,1	-22,1
Rusia	-24,0	-8,8
Perú	-5,7	+5,8
Nepal	-18,3	-13,8
EEUU	-32,8	-5,9

base genética. La mayoría de estas han sido mejoradas para lograr su máximo potencial de rendimiento en condiciones óptimas de suelo y temperatura. Por lo tanto, uno de los nuevos desafíos que enfrenta la investigación agrícola es crear variedades que logren altos rendimientos bajo circunstancias adversas de temperatura y baja disponibilidad de agua.

Esto no es una tarea fácil, debido a que la tolerancia a condiciones de estrés abiótico -como temperaturas extremas y sequías- está asociada a baja productividad (Hijmans, 2003). Entre algunas medidas de adaptación, se sugiere adelantar la época de plantación para escapar de las temperaturas altas y sequía estival, implementar técnicas de riego altamente eficiente como riego por goteo y por pulsos, y ajustar los tiempos de riego. Sin embargo, en algunas zonas estas medidas no serían tan fácil de implementar porque la época de plantación dependería de los cultivos precedentes, de la disponibilidad de agua, de la capacidad de inversión, de la incidencia de plagas y enfermedades y también del mercado. Entre otras medidas sugeridas, destaca el usar variedades más tempranas para escapar a la sequía. Una medida de adaptación más drástica sería el traslado del cultivo de papas hacia otras zonas más favorables, hacia aéreas de mayor latitud y altitud (Schafleitner *et al.*, 2011).

En todo caso, es evidente que los agricultores, por si solos, no tienen la capacidad de generar las circunstancias que permitan tener éxito en la adaptación del cultivo de la papa a las nuevas condiciones climáticas. Si se quiere tener éxito en adaptar un cultivo a las nuevas condiciones climáticas (significando la preservación de genotipos locales, generación de cultivares más tolerantes al estrés climático y nuevas estrategias de gestión en campo), se hace necesario contar con un proceso de adaptación planificada, esto es adaptación desde el Estado, con inversión de recursos públicos.

LITERATURA CONSULTADA

AGRIMED (2008). Impactos productivos en el sector silvoagropecuario de Chile frente a escenarios de cambio climático. Análisis de vulnerabilidad del sector silvoagropecuario, recursos hídricos y edáficos de Chile frente a escenarios de cambio climático, Santiago, Chile.

CIP (2012). Climate Change is adversely impacting potato farming in Peru's Andes, according to recent findings at the International Potato Center (CIP). <http://cipotato.org/press-room/press-releases/climate-change-takes-a-toll-on-andean-potato-farming/> (Último acceso Abril 2012).

FAO (2015). Crop Water Information: Potato, In http://www.fao.org/nr/water/cropinfo_potato.html (Último acceso Marzo 2015).

FAOSTAT (2014). FAOSTAT online database, <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> (Último acceso Marzo 2014).

Geng Torres, L. (2007). El Futuro de Perú ante el cambio Climático CONAM, 18p. http://www.comunidadandina.org/development/cl_LuisGeng.pdf.

- Hancock, R. D., Morris, W. L., Ducreux, L. J., Morris, J. A., Usman, M., Verrall, S. R., Fuller, J., Simpson, C.G., Zhang Hedley, P.E., and Taylor, M. A. (2014).** Physiological, biochemical and molecular responses of the potato (*Solanum tuberosum* L.) plant to moderately elevated temperature. *Plant, Cell and Environment*, 37(2), 439-450. doi: 10.1111/pce.12168. Epub 2013 Aug 27.
- Hijmans, R. J. (2003).** The effect of climate change on global potato production. *American Journal of Potato Research*, 80(4), 271-279.
- Högy, P., and Fangmeier, A. (2009).** Atmospheric CO₂ enrichment affects potatoes: 1. aboveground biomass production and tuber yield. *European Journal of Agronomy*, 30(2), 78-84.
- IPCC (2007).** Climate Change: the AR4 Synthesis Report Edited by Rajendra K. Pachauri IPCC, Geneva, Switzerland. https://www.ipcc.ch/pdf/...report/ar4/syr/ar4_syr.pdf (Último acceso diciembre 2014).
- IPCC (2013).** Fifth Assessment Report, WG1 AR5. <http://www.ipcc.ch/report/ar5/wg1/> (Último acceso junio 1015).
- IPCC (2015).** Carbon Dioxide: Projected emissions and concentrations. http://www.ipcc-data.org/observ/ddc_co2.html, (Último acceso noviembre 1015).
- Katny, M. A. C., Hoffmann-Thoma, G., Schrier, A. A., Fangmeier, A., Jäger, H. J., and van Bel, A. J. (2005).** Increase of photosynthesis and starch in potato under elevated CO₂ is dependent on leaf age. *Journal of Plant Physiology*, 162(4), 429-438.
- Kleinkopf, G.E., Brandt, T.L., and Olsen, N. (2003).** Physiology of tuber bulking, en Idaho Potato Conference on January 23 (2003). [http://www.cals.uidaho.edu/potatoes/Research andExtensionTopic/GrowthandPhysiology/ PhysiologyOfTuberBulking-03.pdf](http://www.cals.uidaho.edu/potatoes/Research%20and%20ExtensionTopic/GrowthandPhysiology/PhysiologyOfTuberBulking-03.pdf) (Último acceso enero 2015).

MMA (2014). Plan Nacional de Adaptación al Cambio Climático. Oficina de Cambio Climático Ministerio del Medio Ambiente Santiago, Chile. <http://portal.mma.gob.cl/cambio-climatico/> (Último acceso marzo 2015).

ODEPA (2015). Cultivos anuales: Estimación de superficie sembrada a nivel nacional años agrícolas 2013/14 y 2014/15. <http://www.odepa.cl/cultivos-anuales-estimacion-de-superficie-sembrada-a-nivel-nacional-anos-agricolas-201112-y-201213-2> (Último acceso septiembre 2015).

Schafleitner, R., Gutierrez, R., Espino, R., Gaudin, A., Pérez, J., Martínez, M., Domínguez, A., Tincopa, L., Alvarado, C., Numberto, G., and Bonierbale, M. (2007). Field screening for variation of drought tolerance in *Solanum tuberosum* L. by agronomical, physiological and genetic analysis. *Potato Research*, 50(1), 71-85. doi: 10.1007/s11540-007-9030-9.

Schafleitner, R., Ramirez, J., Jarvis, A., Evers, D., Gutierrez, R., and Scurrah, M. (2011). Adaptation of the potato crop to changing climates. *Crop Adaptation to Climate Change*. [Yadav, S., Redden, B. Hattfield, JL, and Lotze-Campen, H.(ed.)]. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, 287-297.

Sood, M. C., and Singh, N. (2003). Water management. Khurana, SMP, Minhas; JS, Pandey, SK (Eds.). *The Potato: Production and utilization in sub-tropics*. Mehta Publishers. New Delhi, India, 111-120.

EFFECTOS DEL ESTRÉS HÍDRICO Y DE ALTAS TEMPERATURAS EN EL CULTIVO DE PAPA

María Teresa Pino

La papa (*Solanum tuberosum* L.) se cultiva en una amplitud de condiciones ambientales (temperatura, precipitación, fotoperiodo y tipos de suelos). Sin embargo, el déficit hídrico y altas temperaturas están altamente asociados al cambio climático, y son los estreses abióticos más limitantes en el rendimiento de este cultivo. En países como Estados Unidos, Rusia, India y China, los rendimientos del cultivo de papa podrían disminuir hasta en un 30% si no se recurre a técnicas de adaptación al cambio climático (Hijmans, 2003). Entre las varias medidas de adaptación al cambio climático, es cada vez más necesario desarrollar variedades eficientes en la captura y uso eficiente del agua con el objetivo de incrementar los rendimientos y/o compensar futuros efectos negativos del cambio climático.

EL SISTEMA RADICULAR DE LA PAPA LIMITA SU ADAPTACIÓN AL DÉFICIT HÍDRICO

La vulnerabilidad de este cultivo al déficit hídrico se explica en parte por su sistema radicular y su limitada capacidad de profundización en comparación a otros cultivos como los cereales. Mientras en papas el máximo crecimiento de la raíz en longitud podría alcanzar los 20 km m⁻², en maíz alcanzaría los 50 km m⁻² y en trigo 86 km m⁻² (Yamaguchi y Tanaka, 1990). Así en papa cultivada, su escaso desarrollo radicular y capacidad de profundización limitarían la absorción del agua a mayores profundidades de suelo (Iwama y Yamaguchi, 2006; Iwama, 2008). Un estudio en papas que comparó el desarrollo radicular entre cultivares tardíos y tempranos, mostró que entre el 87 y 96% de las raíces se concentraron en los primeros 30

cm de profundidad de suelo, respectivamente. Mientras que en los cultivares tempranos la longitud total de raíces por unidad de área fue de 3.2 km m^{-2} , en cultivares tardíos alcanzó 6.9 km m^{-2} (Iwama, 2008). El sistema radicular de algunas especies tiene la habilidad de profundizar a potenciales hídricos tan bajos, capaces incluso de inhibir completamente el crecimiento de la planta. En distintas especies se ha observado que la relación biomasa-raíz/biomasa-tallos aumenta en la medida que disminuye la disponibilidad de agua en el suelo. Un estudio que evaluó el rendimiento de 250 genotipos de papas bajo sequía en condiciones de campo, por el método PRRSC (por su sigla en inglés, Pulling Resistance of Roots Selection-Criterion), mostró una asociación positiva entre el rendimiento bajo estrés hídrico, el peso seco y largo máximo de raíces (Ekanayake y Midmore, 1992). Resultados similares se observaron en cuatro cultivares de papa, aquellos genotipos que lograron mayores rendimientos bajo déficit hídrico presentaron mayor desarrollo radicular que aquellos menos tolerantes (Lahlou y Ledent, 2005). Estudios *in vitro* también han mostrado que los genotipos de papa más tolerantes a sequía (en PEG o Sorbitol) presentaron mayor desarrollo radicular que aquellos menos tolerantes (Gopal e Iwama, 2007). Plántulas transgénicas de *Solanum commersonii* Dun. tolerantes a mayor concentración de PEG (estrés hídrico simulado *in vitro*) mostraron mayor desarrollo radicular que los controles no transgénicos y menos tolerantes (Pino *et al.*, 2013). En conjunto con la reducción de la biomasa de las raíces en respuesta a sequía, también se ha observado una reducción en el largo, número y grosor de las raíces en genotipos menos tolerantes (Mane *et al.*, 2008; Albiski *et al.*, 2012; Auber *et al.*, 2013).

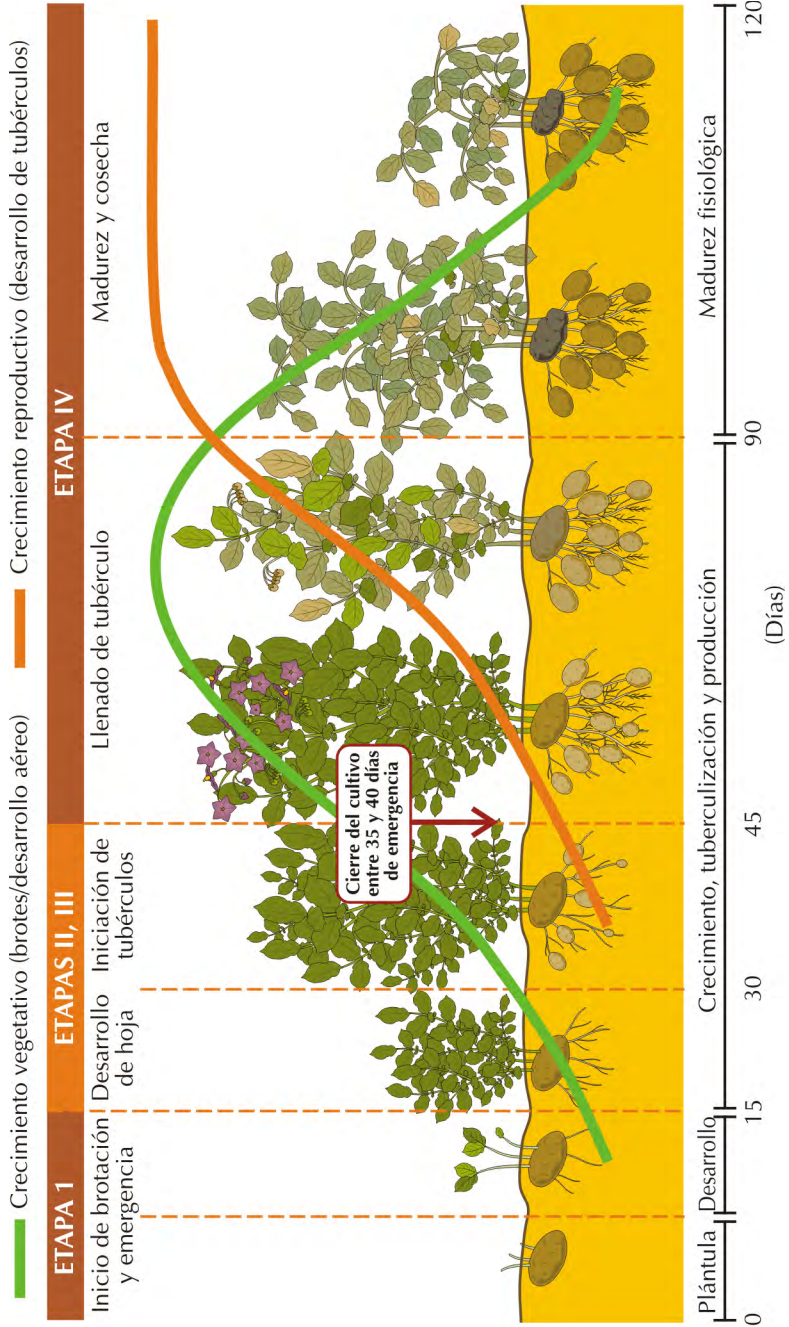
EL DÉFICIT HÍDRICO REDUCE EL CRECIMIENTO DE LA PLANTA Y LA PRODUCCIÓN DE TUBÉRCULOS

Una de las primeras respuestas al déficit hídrico es la reducción del crecimiento de la planta debido a la inhibición de la expansión celular; fundamentalmente porque disminuye la presión de turgor requerida para la expansión celular y consecuentemente se reduce el crecimiento de las hojas, tallos y raíces (Spollen *et al.*, 1993;

Iwama, 2008). En papas, la sequía antes de afectar el rendimiento primero reduce el crecimiento vegetativo de la planta, afectando el largo de tallos, el tamaño y número de hojas (Weisz *et al.*, 1994; Deblonde y Ledent, 2001). En varios estudios *in vitro*, se han observado respuestas similares a las observadas en campo, disminución del crecimiento vegetativo total de la plántula, menor desarrollo de las hojas y acortamiento de tallos (Gopal y Iwama, 2007; Pino *et al.*, 2013). Otros estudios en campo, evaluando papas cultivadas bajo riego y secano, mostraron que en condiciones de secano las plantas tuvieron menor desarrollo vegetativo y foliar (Ojala *et al.*, 1990; Walworth y Carling, 2002; Shahnazari *et al.*, 2007). Tempranamente, se sugirió que la humedad de suelo en términos de “humedad aprovechable” no debería ser inferior al 50% para lograr un buen desarrollo de la planta y consecuentemente buenos rendimientos (Mackerron y Jefferies, 1986). A potenciales hídricos de suelo inferiores a -0.3 MPa, tanto en papas como en otros cultivos, se reduce significativamente el crecimiento de la planta (Schafleitner *et al.*, 2007). Algunos estudios reportan no tan sólo reducción en el tamaño de la hoja sino también en el número de hojas (Fasan y Haverkort, 1991; Deblonde y Ledent, 2001).

Es importante destacar que la papa cultivada es sensible a la sequía particularmente durante el periodo de tuberización y llenado de tubérculos. Restricciones en la disponibilidad hídrica en estas etapas, se expresa en pérdidas significativas en los rendimientos y también en la calidad de los tubérculos (Weisz *et al.*, 1994; Dalla Costa *et al.*, 1997; Mane *et al.*, 2008). Sin embargo, la magnitud de su efecto en los procesos fisiológicos y su consecuente impacto en los componentes del rendimiento dependen del momento de ocurrencia del déficit hídrico, duración y severidad del mismo (Jeffery, 1995). Por ejemplo, el déficit hídrico en etapas tempranas del cultivo (tuberización, estados II a III en **Figura 2.1**), reduce el área foliar (debido a una reducción en el número de los tallos y el tamaño de hojas) afectando negativamente el número de tubérculos. Mientras que el déficit hídrico en etapas tardías (llenado de tubérculos, estado IV en **Figura 2.1**), reduce la duración del área foliar (se acorta el ciclo) disminuyendo el tamaño y calidad de los tubérculos.

Figura 2.1. Principales estados de desarrollo del cultivo de la papa (Copyright 2014 SQM).



Un estudio realizado INIA Chile en condiciones de campo, que comparó los rendimientos de 30 genotipos de papas bajo sequía controlada durante dos temporadas, mostró que en promedio los rendimientos disminuyeron entre 10 y 60%, mostrando diferencias significativas entre los genotipos evaluados. Resultados similares fueron observados en un experimento que evaluó el efecto del déficit hídrico en cuatro cultivares de papa bajo condiciones controladas de invernadero; en el cultivar Yagana (piel amarilla), el rendimiento por planta disminuyó hasta en un 60% cuando sólo se repuso el 25% de su evapotranspiración diaria, mostrando además un número significativo de tubérculos partidos y de menor tamaño. Mientras que en un cultivar de piel roja como Karú, el rendimiento disminuyó en un 27% cuando se repuso el 25% de su evapotranspiración (**Figura 2.2**). Asimismo, estos cultivares mostraron menor desarrollo de la

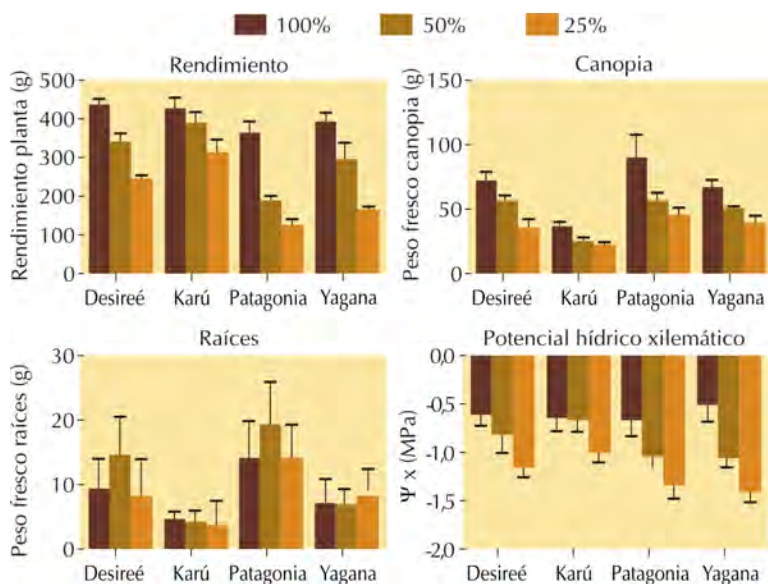


Figura 2.2. Efecto del déficit hídrico en cuatro cultivares de papa (Desireé, Karú, Patagonia y Yagana) en el rendimiento de tubérculos por planta, peso fresco de la canopia, peso fresco de la raíz y potencial hídrico xilemático. Este experimento fue realizado en macetas en condiciones de invernadero ($24\pm 3^{\circ}\text{C}$) durante dos temporadas. Los tratamientos de estrés hídrico fueron 100% de riego, 50% de riego y 25% de riego desde inicio de tuberización. El tratamiento control correspondió al 100% de reposición de la evapotranspiración diaria.

canopia (tallos + hojas) a menor disponibilidad hídrica. Sin embargo, no se observó diferencia en la biomasa de las raíces para Yagana y Karú, pero si se observaron diferencias en los cultivares Desireé y Patagonia. Con 50% de reposición de la evapotranspiración diaria se observó el máximo crecimiento de raíces. En todos los cultivares, el potencial hídrico xilemático se hizo más negativo a menor riego, con valores de 0,59 MPa con 100% de riego y de -1,15 MPa con 25% de riego. A 15 bares de tensión, la mayoría de las plantas de los cultivares evaluados mostraron síntomas de marchitez permanente.

ALTAS TEMPERATURAS AFECTAN EL CRECIMIENTO VEGETATIVO Y TUBERIZACIÓN EN PAPAS

Al año 2050, se proyecta que el calentamiento global disminuiría los rendimientos en papas hasta en un 32% (Hijmans, 2003). En general, el cultivo de papa se desarrolla en forma óptima con temperaturas entre 14 y 22°C, sobre estas temperaturas los rendimientos disminuyen significativamente, como resultado de la inhibición del crecimiento vegetativo de la planta, inhibición de la tuberización y disminución en la calidad del tubérculo (Van Dam *et al.*, 1996). Un estudio mostró que temperaturas sobre 30°C producen plantas más altas, hojas más pequeñas, y valores más altos en la relación tallos/hojas. Además, se observó un retraso en la madurez, y una disminución en el porcentaje de materia seca de los tubérculos (Khedher y Ewing, 1985). Un estudio sobre tuberización *in vitro* mostró que temperaturas superiores a 30°C reducen significativamente la tuberización y retrasan la formación de tubérculos en los cultivares Desireé, Kennebec y LT-2; incluso el cultivar Russet Burbank no logró tuberizar (Nowak y Colborne, 1989). También se ha observado un cambio en la acumulación de biomasa, expresado en un menor índice de cosecha, mayor biomasa aérea y menor biomasa a nivel tubérculos (Hancock *et al.*, 2014). En términos fisiológicos, el estrés por altas temperaturas ha sido asociado a una baja significativa en la fotosíntesis neta, y a la degradación de clorofilas (Reynolds *et al.*, 1990). Específicamente, se ha observado una degradación de la clorofila a, clorofila b y pigmentos carotenoides (Hancock *et al.*, 2014).

Temperaturas nocturnas sobre los 21°C, aumentan la transpiración y reducen la gravedad específica del tubérculo causando defectos debido a un transporte inverso de los carbohidratos de reserva. Temperaturas diurnas, superiores a 32°C pueden aumentar los defectos en los tubérculos, tales como corazón negro, mancha chocolate y corazón hueco (Van Dam *et al.*, 1996; Hancock *et al.*, 2014).

Estudios de expresión génica han reportado que temperaturas de 30°C día/20°C noche causan expresión diferencial de genes asociados a respuesta a estrés, tanto en hojas como en tubérculos (Hancock *et al.*, 2014). Sobre 2000 genes fueron sobre expresados o reprimidos, incluyendo algunos genes previamente reportados, como del tipo HSP (por su sigla en inglés, Heat Shock Proteins), StSP6A un factor de transcripción FT (por su sigla en inglés, Flowering Locus T) asociado con la inducción de tuberización (Navarro *et al.*, 2011), y genes que codifican para enzimas asociados a la síntesis de almidón, entre otros varios (Hancock *et al.*, 2014).

LITERATURA CONSULTADA

Albiski, F., Najla, S., Sanoubar, R., Alkabani, N., and Murshed, R. (2012). *In vitro* screening of potato lines for drought tolerance. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 18(4), 315-321. doi: 10.1007/s12298-012-0127-5.

Auber, J., Bonierbale, M., and Asch, F. (2013). Screening potato for drought tolerance by linking physiological to morphological traits. Tropentag 2013. Agricultural development within the rural-urban continuum. Stuttgart-Hohenheim (Germany). 17-19 Sep, 2013. www.tropentag.de/2013/abstracts/links/Asch_402Qjtby.pdf

Dalla Costa, L., Delle Vedove, G., Gianquinto, G., Giovanardi, R., and Peressotti, A. (1997). Yield, water use efficiency and nitrogen uptake in potato: influence of drought stress. *Potato Research*, 40(1), 19-34.

- Deblonde, P. M. K., and Ledent, J. F. (2001).** Effects of moderate drought conditions on green leaf number, stem height, leaf length and tuber yield of potato cultivars. *European Journal of Agronomy*, 14(1), 31-41.
- Ekanayake, I. J., and Midmore, D. J. (1992).** Genotypic variation for root pulling resistance in potato and its relationship with yield under water-deficit stress. *Euphytica*, 61(1), 43-53.
- Fasan, T., and Haverkort, A. J. (1991).** The influence of cyst nematodes and drought on potato growth. 1. Effects on plant growth under semi-controlled conditions. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 97(3), 151-161. doi: 10.1007/ BF01995964.
- Gopal, J., and Iwama, K. (2007).** *In vitro* screening of potato against water-stress mediated through sorbitol and polyethylene glycol. *Plant Cell Reports*, 26(5), 693-700.
- Hancock, R. D., Morris, W. L., Ducreux, L. J., Morris, J. A., Usman, M., Verrall, S. R., Fuller, J., Simpson, C.G., Zhang Hedley, P.E., and Taylor, M. A. (2014).** Physiological, biochemical and molecular responses of the potato (*Solanum tuberosum* L.) plant to moderately elevated temperature. *Plant, Cell and Environment*, 37(2), 439-450. doi: 10.1111/pce.12168. Epub 2013 Aug 27.
- Hijmans, R. J. (2003).** The effect of climate change on global potato production. *American Journal of Potato Research*, 80(4), 271-279.
- Iwama, K. (2008).** Physiology of the potato: new insights into root system and repercussions for crop management. *Potato Research*, 51(3-4), 333-353.
- Iwama, K., and Yamaguchi, J. (2006).** Abiotic stresses, *In: Handbook of potato production, improvement, and postharvest management.* Gopal, J., and Khurana, S. M (Eds.), Food Products Press. New York, 231-278.

- Jeffery, R.A. (1995).** Physiology of crop response to drought. *In: Potato Ecology and Modeling of Crops Under Conditions Limiting Growth*, Haverkort, A.J. and MacKerron D.K.L. (Eds.). Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, 61–74.
- Khedher, M. B., and Ewing, E. E. (1985).** Growth analyses of eleven potato cultivars grown in the greenhouse under long photoperiods with and without heat stress. *American Potato Journal*, 62(10), 537-554.
- Lahlou, O., and Ledent, J. F. (2005).** Root mass and depth, stolons and roots formed on stolons in four cultivars of potato under water stress. *European Journal of Agronomy*, 22(2), 159-173.
- MacKerron, D. K. L., and Jefferies, R. A. (1986).** The influence of early soil moisture stress on tuber numbers in potato. *Potato Research*, 29(3), 299-312. doi: 10.1007/BF02359959.
- Mane, S. P., Robinet, C. V., Ulanov, A., Schafleitner, R., Tincopa, L., Gaudin, A., Nomberto, G., Alvarado, C., Solis, C., Avila, L., Blas, R., Ortega, O., Solis, J., Panta, A., Rivera, C., Samolski, I., Carbajulca, D.H., Bonierbale, M., Pati, A., Heath, L.S., Bohnert, H.J., and Grene, R. (2008).** Molecular and physiological adaptation to prolonged drought stress in the leaves of two Andean potato genotypes. *Functional Plant Biology*, 35(8), 669-688. doi:10.1071/FP07293.
- Navarro, C., Abelenda, J. A., Cruz-Oró, E., Cuéllar, C. A., Tamaki, S., Silva, J., Shimamoto K., and Prat, S. (2011).** Control of flowering and storage organ formation in potato by Flowering Locus T. *Nature*, 478(7367), 119-122.
- Nowak, J., and Colborne, D. (1989).** *In vitro* tuberization and tuber proteins as indicators of heat stress tolerance in potato. *American Potato Journal*, 66(1), 35-45.

- Ojala, J. C., Stark, J. C., and Kleinkopf, G. E. (1990).** Influence of irrigation and nitrogen management on potato yield and quality. *American Potato Journal*, 67(1), 29-43.
- Pino, M. T., Ávila, A., Molina, A., Jeknic, Z., and Chen, T.H.H. (2013).** Enhanced *in vitro* drought tolerance of *Solanum tuberosum* and *Solanum commersonii* plants overexpressing the ScCBF1 gene. *Cien. Inv. Agr*, 40, 171-184.
- Reynolds, M. P., Ewing, E. E., and Owens, T. G. (1990).** Photosynthesis at High Temperature in Tuber-Bearing *Solanum* Species a Comparison between Accessions of Contrasting Heat Tolerance. *Plant Physiology*, 93(2), 791-797.
- Schafleitner, R., Gutierrez, R., Espino, R., Gaudin, A., Pérez, J., Martínez, M., Domínguez, A., Tincopa, L., Alvarado, C., Numberto, G., and Bonierbale, M. (2007).** Field screening for variation of drought tolerance in *Solanum tuberosum* L. by agronomical, physiological and genetic analysis. *Potato Research*, 50(1), 71-85. doi: 10.1007/s11540-007-9030-9.
- Shahnazari, A., Liu, F., Andersen, M. N., Jacobsen, S. E., and Jensen, C. R. (2007).** Effects of partial root-zone drying on yield, tuber size and water use efficiency in potato under field conditions. *Field Crops Research*, 100(1), 117-124.
- Spollen, W. G., Sharp, R. E., Saab, I. N., and Wu, Y. (1993).** Regulation of cell expansion in roots and shoots at low water potentials. *In: Water deficits: plant responses from cell to community*. Smith, J.A.C. and Griffiths, H. (Eds.). Oxford Bios Scientific Publishers, 37-52.
- Van Dam, J., Kooman, P. L., and Struik, P. C. (1996).** Effects of temperature and photoperiod on early growth and final number of tubers in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Potato Research*, 39(1), 51-62.

- Walworth, J. L., and Carling, D. E. (2002).** Tuber initiation and development in irrigated and non-irrigated potatoes. *American Journal of Potato Research*, 79(6), 387-395.
- Weisz, R., Kaminski, J., and Smilowitz, Z. (1994).** Water deficit effects on potato leaf growth and transpiration: utilizing fraction extractable soil water for comparison with other crops. *American Potato Journal*, 71(12), 829-840.
- Yamaguchi, J., and Tanaka, A. (1990).** Quantitative observation on the root system of various crops growing in the field. *Soil Science and Plant Nutrition*, 36(3), 483-493.

PRINCIPALES OSMOPROTECTORES ENVUELTOS EN LA RESPUESTA A ESTRÉS HÍDRICO Y ESTRÉS TÉRMICO EN PAPAS

Eung-Jun Park
María Teresa Pino

Las plantas al enfrentar estreses del tipo abiótico, ya sea por sequía, salinidad, y/o temperaturas extremas, además de reducir significativamente su crecimiento y productividad, sufren una serie de cambios a nivel fisiológico, bioquímico y molecular, como mecanismos de respuesta frente a condiciones adversas (Serraj y Sinclair, 2002; Mahajan y Tuteja, 2005; Hu *et al.*, 2010; Fraire-Velázquez *et al.*, 2011). Algunas especies vegetales han desarrollado mayor tolerancia a este tipo de estreses, mostrando mejor capacidad de aclimatación como resultado de una exposición gradual al estrés en el tiempo. Ello, con la consecuente activación de varios mecanismos de respuesta como: cambios en la expresión de genes, síntesis de ácido absísico (ABA), alteración en la composición de la membrana, biosíntesis de anti-oxidantes, y acumulación de solutos compatibles, como azúcares solubles, amino ácidos libres, y otros (Hu *et al.*, 2010). Se ha observado que algunas especies de papas como *Solanum commersonii* Dun (una especie silvestre), tienen la capacidad de aclimatarse a bajas temperaturas, aumentando su tolerancia a heladas desde -4°C hasta -10°C, luego de ser expuesta a temperaturas cercanas a los 4°C durante una a dos semanas. En conjunto con esta respuesta, también se ha reportado en *S. commersonii* cambios a nivel fisiológico, bioquímico y molecular, incluyendo el aumento de osmoprotectores como prolina y azúcares solubles (Chen *et al.*, 1999; Pino *et al.*, 2008).

PRINCIPALES OSMOPROTECTORES Y SUS FUNCIONES EN ESTRÉS ABIÓTICO

Los solutos compatibles u osmoprotectores son sustancias de bajo peso molecular, incluyen la mayoría de los solutos osmóticamente activos, y están presentes en todas las células. Frente a estrés abiótico, estos solutos compatibles cumplen un importante rol en la protección de las plantas a nivel celular, manteniendo el ajuste osmótico y turgor de la célula. Actuarían como chaperonas, estabilizando enzimas, proteínas y membranas, destruyendo especies reactivas de oxígeno ROS (por su sigla en inglés, Reactive Oxygen Species) y estabilizando los complejos del fotosistema II. En términos generales, los solutos compatibles se clasifican en tres grupos: aminoácidos (ej. prolina), amino-cuaternarios (ej. glicina betaína, dimetilsulfoniopropionato), polioles (ej. manitol, sorbitol, mio-inositol) y azúcares solubles (ej. sacarosa, glucosa, trehalosa) (Chen y Murata, 2002; Wang *et al.*, 2003; Hu *et al.*, 2010).

PROLINA CUMPLIRÍA VARIAS FUNCIONES DURANTE EL ESTRÉS ABIÓTICO

Aun cuando el rol específico de la prolina no está bien definido, se sugiere que cumpliría varias funciones durante el estrés abiótico. La acumulación de prolina se ha asociado a la estabilización tanto de proteínas como de membranas, como fuente de carbono, nitrógeno y energía durante la rehidratación celular (Kishor *et al.*, 1995, 2005; Szabados y Savoure, 2010). La síntesis de prolina frente estrés abiótico ha sido reportada en varias especies, como *Phaseolus vulgaris* L. (Andrade *et al.*, 1995), *Nicotiana tabacum* (Kishor *et al.*, 1995), tomate (Claussen, 2005), *Capsicum annum* (Chaman, 2007), *Olea europaea* L. cv. *Chemlali* (Ahmed *et al.*, 2008), moras y frambuesas (Orlikowska *et al.*, 2009; Morales *et al.*, 2013). En papa (*Solanum tuberosum* L.), se ha observado un aumento en la concentración de prolina a nivel de hoja en respuesta a déficit hídrico (Bansal y Na-

garajan, 1986). Otro estudio también en papas, reportó acumulación de prolina en plantas transgénicas capaces de sintetizar fructanos frente a estrés hídrico (Knipp y Honermeier, 2006). También se ha observado acumulación de prolina en *S. commersonii* y *S. tuberosum* genéticamente transformada con factores de transcripción del tipo CBF o DREB (por su sigla en inglés, C-Repeat Binding Factors/ Dehydration Responsive Element Binding) en respuesta a bajas temperaturas (Pino *et al.*, 2008) y en respuesta a déficit hídrico *in vitro* (Pino *et al.*, 2013). Además, se ha reportado acumulación de prolina en hojas, tempranamente en variedades de papas susceptibles a sequía y tardíamente en variedades de papas tolerantes a sequía (Schafleitner *et al.*, 2007).

AZÚCARES SOLUBLES ACTÚAN COMO OSMOPROTECTORES FRENTE A ESTRÉS OSMÓTICO

Los azúcares solubles y la síntesis de oligosacáridos derivados de la sacarosa, como los fructanos, actúan como osmoprotectores frente a estrés osmótico y fuente de reserva de carbono. Un estudio, en plantas transgénicas de tabaco y remolacha azucarera capaces de inducir acumulación de fructanos fueron más tolerantes a sequía que aquellas que no producían fructanos (Pilon-Smits *et al.*, 1995; Pilon-Smits *et al.*, 1999). Plantas transgénicas de papa y tabaco capaces de inducir trehalosa, mostraron mayor tolerancia a sequía respecto a sus controles (Chen y Murata, 2002). Otro estudio que comparó clones de papas tolerantes (397077.16) y susceptibles (Canchan) a sequía, mostró en el clon tolerante mayor síntesis de galactinol y rafinosa (Legay *et al.*, 2011). Otros estudios comparando *S. commersonii* (genotipo tolerante a heladas) y *S. tuberosum* (genotipo susceptible a heladas), reportaron un incremento en azúcares solubles totales en las hojas de *S. commersonii* al ser sometidas a bajas temperaturas y a sequía (Pino *et al.*, 2008; Pino *et al.*, 2013). Otro estudio reciente, mostró en *S. commersonii* una mayor acumulación fructosa, glucosa y sucrosa bajo estrés abiótico respecto a su control susceptible (Folgado *et al.*, 2013).

LOS POLIOLES HAN SIDO RELACIONADOS CON ESTRÉS ABIÓTICO

Los polioles o hidratos de carbono con grupos cíclicos (ej. manitol, sorbitol, mio-inositol), también han sido relacionados con estrés abiótico, en el ajuste osmótico y reserva de carbono. Por ejemplo, plantas transgénicas con genes que inducen la síntesis de manitol, han sido principalmente asociadas a estrés salino y a sequía en especies como *Nicotiana tabacum*, *Populus tormentosa* y *Arabidopsis*. En papas, se ha observado que las líneas transgénicas con el gen mtID (manitol-1-fosfato-deshidrogenasa) mejoraron la tolerancia a estrés salino (Askari y Pepoyan, 2012). Por otra parte, el sorbitol se ha asociado al ajuste osmótico en plantas sometidas a estrés salino, a sequía y también a bajas temperaturas en especies como tomate, arroz, y manzano (dos Reis *et al.*, 2012). En *Arabidopsis*, líneas mutantes acumuladoras de sorbitol, knock-out para el gen responsable de la catálisis de sorbitol AtSDH (por su sigla en inglés, Sorbitol Deshidrogenasa), fueron más tolerantes a condiciones de estrés por deshidratación, presentando una tasa de sobrevivencia 50% mayor que plantas control (Aguayo *et al.*, 2013).

GLICINA BETAÍNA

Glicina betaína (GB) es uno de los solutos compatibles más conocido. GB es bipolar, pero de carga neutra a pH fisiológico. Estudios *in vitro* han mostrado que no es tóxico, y es un osmolito que ayuda al equilibrio osmótico intracelular cuando la célula es expuesta a un estrés inducido de hiper-osmosis, su síntesis puede ser inducida tanto por estrés hídrico como por estrés salino (Gorham, 1995). El mecanismo de acción de GB no ha sido completamente establecido aún. Sin embargo, existen dos hipótesis contrastantes; la primera sugiere que GB protegería las proteínas, a través de la formación de una película de agua alrededor de las mismas (Arakawa y Timasheff, 1983), y la segunda sugiere que GB estabilizaría proteínas por directa interacción con ellas (Schobert, 1977). Se ha reportado

que GB estabilizaría complejos del tipo proteína-pigmento como el PSII y protegería tanto enzimas como membranas en condiciones de estrés (Papageorgiou y Murata, 1995). La ruta metabólica desde glicina a GB fue primeramente descrita en microorganismos extremadamente halófilos, *Ectothiorhodospira halochloris* y *Actinopolyspora halophila*. En estos microorganismos, GB es generada por dos S-adenosilmetionina dependiente metiltransferasa, GSMT y SDMT (Nyysölä *et al.*, 2000). A pesar de ello, GB se acumula en una amplia variedad de organismos bajo condiciones de estrés abiótico. En plantas, la enzima colina monooxigenasa (CMO) convierte la colina en betaína aldehído y luego mediante una enzima dependiente de NAD⁺, betaína aldehído deshidrogenasa (BADH), produce GB. Este tipo de enzimas son principalmente encontradas en el estroma del cloroplasto y su actividad se incrementa en respuesta a estrés salino. En *E. coli*, GB es sintetizada por la enzima colina-deshidrogenasa con BADH. Mientras que en bacterias de suelo como *Arthrobacter globiformis*, colina-oxidasa-A (codA) convierte colina en GB y H₂O₂ en un único paso. La biosíntesis de GB no sólo es inducida por estrés también su concentración varía entre especies, fluctuando entre 40 a 400 µmol g⁻¹ peso seco, por eso también se conoce como un acumulador natural en condiciones de estrés (Rhodes y Hanson, 1993). La papa al igual que en otras especies vegetales, no es capaz de sintetizar ni acumular GB en forma natural. Sin embargo, la aplicación exógena de GB en algunas especies ha mostrado ser efectiva, mejorando la tolerancia a estrés abiótico en ellas; por ejemplo, en algunas solanáceas como tomate (Park *et al.*, 2007) y papas (Cheng *et al.*, 2013). Un estudio que transformó genéticamente papas (*S. tuberosum*), con el gen codA, mostró que su expresión permitió la síntesis de GB en papas transgénicas y su acumulación (12 µmol GB por g⁻¹ peso fresco) bajo estrés abiótico (Cheng *et al.*, 2013); también se observó síntesis H₂O₂, mayor actividad enzimática anti-oxidante, mayor eficiencia fotosintética, mayor potencial hídrico de la hoja, mayor contenido de clorofilas y bajo MDA. Similares resultados han sido publicados en tomates transgénicos (con el gen codA) sometidos a estrés abiótico (Park *et al.*, 2007).

LITERATURA CONSULTADA

- Aguayo, M. F., Ampuero, D., Mandujano, P., Parada, R., Muñoz, R., Gallart, M., and Handford, M. (2013).** Sorbitol dehydrogenase is a cytosolic protein required for sorbitol metabolism in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science*, 205, 63-75. doi: 10.1016/j.plantsci.2013.01.012
- Ahmed, C. B., Rouina, B. B., and Boukhris, M. (2008).** Changes in water relations, photosynthetic activity and proline accumulation in one-year-old olive trees (*Olea europaea L. cv. Chemlali*) in response to NaCl salinity. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(4), 553-560.
- Andrade, J. L., Larque-Saavedra, A., and Trejo, C. L. (1995).** Proline accumulation in leaves of four cultivars of *Phaseolus vulgaris L.* with different drought resistance. *Phyton-Revista Internacional de Botanica Experimental*, 57(2), 149-158.
- Arakawa, T., and Timasheff, S. N. (1983).** Preferential interactions of proteins with solvent components in aqueous amino acid solutions. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 224(1), 169-177.
- Askari, A., and Pepoyan, A. (2012).** Overexpression of mtID gene in potato (*Solanum tuberosum L.*), cv. Arinda improves salt tolerance. *Advances in Environmental Biology*, 6(10), 2646-2653.
- Bansal, K. C., and Nagarajan, S. (1986).** Leaf water content, stomatal conductance and proline accumulation in leaves of Potato (*Solanum tuberosum L.*) in response to water stress. *Indian J. Plant Physiol*, 29(4), 397-404.
- Chaman, M.M.E. (2007).** Variaciones en el contenido relativo de agua y la concentración de prolina en *Capsicum annuum L.* inducido por NaCl. *Arnaldoa*, 14(2), 251- 258.

- Chen, T. H., and Murata, N. (2002).** Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. *Current Opinion in Plant Biology*, 5(3), 250-257.
- Chen, Y. K., Palta, J. P., and Bamberg, J. B. (1999).** Freezing tolerance and tuber production in selfed and backcross progenies derived from somatic hybrids between *Solanum tuberosum* L. and *S. commersonii*. *Theoretical and Applied Genetics*, 99(1-2), 100-107.
- Cheng, Y. J., Deng, X. P., Kwak, S. S., Chen, W., and Eneji, A. E. (2013).** Enhanced tolerance of transgenic potato plants expressing choline oxidase in chloroplasts against water stress. *Botanical Studies*, 54(1), 30. doi:10.1186/1999-3110-54-30
- Claussen, W. (2005).** Proline as a measure of stress in tomato plants. *Plant Science*, 168 (1), 241-248.
- dos Reis, S. P., Lima, A. M., and de Souza, C. R. B. (2012).** Recent molecular advances on downstream plant responses to abiotic stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(7), 8628-8647.
- Folgado, R., Panis, B., Sergeant, K., Renaut, J., Swennen, R., and Hausman, J. F. (2013).** Differential Protein Expression in Response to Abiotic Stress in Two Potato Species: *Solanum commersonii* Dun and *Solanum tuberosum* L. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(3), 4912-4933.
- Fraire-Velázquez, S., Rodríguez-Guerra, R., and Sánchez-Calderón, L. (2011).** Abiotic and Biotic Stress Response Crosstalk in Plants. *In: Abiotic Stress Response in Plants - Physiological, Biochemical and Genetic Perspectives*, Arun Shanker and B. Venkateswarlu (Eds.), ISBN: 978-953-307-672-0, InTech, 346pp. <http://www.intechopen.com/books/abiotic-stress-response-in-plants-physiological-biochemical-and-geneticperspectives/>

- Gorham, J.O.H. (1995).** Betaines in higher plants – biosynthesis and role in stress metabolism. *In: Amino Acids and Their Derivatives in Higher Plants.* Wallsgrave, R.M. (Ed.) Cambridge University Press, Cambridge, 171–203.
- Hu, X. J., Zhang, Z. B., Xu, P., Fu, Z. Y., Hu, S. B., and Song, W. Y. (2010).** Multifunctional genes: the cross-talk among the regulation networks of abiotic stress responses. *Biologia Plantarum*, 54(2), 213-223.
- Kishor, P. K., Hong, Z., Miao, G. H., Hu, C. A. A., and Verma, D. P. S. (1995).** Overexpression of [delta]-pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. *Plant Physiology*, 108(4), 1387-1394.
- Kishor, P. K., Sangam, S., Amrutha, R. N., Laxmi, P. S., Naidu, K. R., Rao, K. R. S.S., Rao, S., Reddy, K.J., Theriappan, P., and Sreenivasulu, N. (2005).** Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science*, 88(3), 424-438.
- Knipp, G., and Honermeier, B. (2006).** Effect of water stress on proline accumulation of genetically modified potatoes (*Solanum tuberosum* L.) generating fructans. *Journal of Plant Physiology*, 163(4), 392-397.
- Legay, S., Lefèvre, I., Lamoureux, D., Barreda, C., Luz, R. T., Gutierrez, R., Quiroz R., Hoffmann, L., Hausman, JF., Bonierbale, M., Evers, D., and Schafleitner, R. (2011).** Carbohydrate metabolism and cell protection mechanisms differentiate drought tolerance and sensitivity in advanced potato clones (*Solanum tuberosum* L.). *Functional and Integrative Genomics*, 11(2), 275-291.
- Mahajan, S., and Tuteja, N. (2005).** Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444 (2), 139-158.

- Morales, C. G., Pino, M. T., and del Pozo, A. (2013).** Phenological and physiological responses to drought stress and subsequent re-hydration cycles in two raspberry cultivars. *Scientia Horticulturae*, 162, 234-241. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2013.07.025>.
- Nyssölä, A., Kerovuo, J., Kaukinen, P., von Weymarn, N., and Reinikainen, T. (2000).** Extreme halophiles synthesize betaine from glycine by methylation. *Journal of Biological Chemistry*, 275(29), 22196-22201.
- Orlikowska, T., Kucharska, D., and Horbowicz, M. (2009).** The reaction of raspberry and blackberry cultivars to drought stress simulated *in vitro* by polyethylene glycol (PEG) 6000. *In: I International Symposium on Biotechnology of Fruit Species: BIOTECHFRUIT 2008*, 337-342.
- Papageorgiou, G. C., and Murata, N. (1995).** The unusually strong stabilizing effects of glycine betaine on the structure and function of the oxygen-evolving photosystem II complex. *Photosynthesis Research*, 44(3), 243-252.
- Park, E. J., Jeknic, Z., Pino, M. T., Murata, N., and Chen, T. H. H. (2007).** Glycinebetaine accumulation is more effective in chloroplasts than in the cytosol for protecting transgenic tomato plants against abiotic stress. *Plant, Cell and Environment*, 30(8), 994-1005.
- Pilon-Smits, E. A., Ebskamp, M. J., Paul, M. J., Jeuken, M. J., Weisbeek, P. J., and Smeekens, S. C. (1995).** Improved performance of transgenic fructan-accumulating tobacco under drought stress. *Plant Physiology*, 107(1), 125-130.
- Pilon-Smits, E. A., Terry, N., Sears, T., and van Dun, K. (1999).** Enhanced drought resistance in fructan-producing sugar beet. *Plant Physiology and Biochemistry*, 37(4), 313-317.

- Pino, M. T., Skinner, J. S., Jeknic, Z., Hayes, P. M., Soeldner, A. H., Thomashow, M. F., and Chen, T. H. (2008).** Ectopic AtCBF1 over-expression enhances freezing tolerance and induces cold acclimation-associated physiological modifications in potato. *Plant, Cell and Environment*, 31(4), 393-406.
- Pino, M. T., Ávila, A., Molina, A., Jeknic, Z., and Chen, T. H. H. (2013).** Enhanced *in vitro* drought tolerance of *Solanum tuberosum* and *Solanum commersonii* plants overexpressing the ScCBF1 gene. *Cien. Inv. Agr.*, 40, 171-184.
- Rhodes, D., and Hanson, A. D. (1993).** Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 44(1), 357-384.
- Schafleitner, R., Gaudin, A., Rosales, R. O. G., Aliaga, C. A. A., and Bonierbale, M. (2007).** Proline accumulation and real time PCR expression analysis of genes encoding enzymes of proline metabolism in relation to drought tolerance in Andean potato. *Acta Physiologiae Plantarum*, 29(1), 19-26.
- Schobert, B. (1977).** Is there an osmotic regulatory mechanism in algae and higher plants? *Journal of Theoretical Biology*, 68(1), 17-26.
- Serraj, R., and Sinclair, T. R. (2002).** Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant, Cell and Environment*, 25(2), 333-341.
- Szabados, L., and Savouré, A. (2010).** Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2), 89-97.
- Wang, W., Vinocur, B., and Altman, A. (2003).** Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218 (1), 1-14.

PRINCIPALES GENES ASOCIADOS A LOS MECANISMOS DE RESPUESTA A ESTRÉS HÍDRICO Y TÉRMICO EN PAPAS

*María Teresa Pino
Francisca Aguayo*

Las plantas al enfrentar estrés del tipo abiótico, ya sea por sequía, salinidad, y temperaturas extremas, además de reducir significativamente su desarrollo vegetativo y productividad, sufren una serie de cambios a nivel molecular asociados a la activación de mecanismos de respuesta y aclimatación (Mahajan y Tuteja, 2005; Hu *et al.*, 2010). Varios estudios demuestran que algunos de estos mecanismos de respuestas son comunes entre los diferentes tipos de estrés, compartiendo no sólo algunas rutas metabólicas sino además genes y metabolitos (Hu *et al.*, 2010; Fraire-Velázquez *et al.*, 2011). Los avances en genómica y las plataformas de identificación genes tanto reprimidos como sobre expresados en función de estreses abióticos específicos han permitido identificar un gran número de genes. Sin embargo, el rol específico de la mayoría de estos genes sólo se ha dilucidado parcialmente y aún resta mucho por conocer. A continuación, se discutirá algunos de los genes más relevantes asociados a estrés abiótico en papas.

LA RESPUESTA A ESTRÉS ABIÓTICO OCURRE A TRAVÉS DE VÍAS DE SEÑALIZACIÓN DEPENDIENTES Y/O INDEPENDIENTES DE ABA

Varios estudios han reportado que los niveles de ácido abscísico (ABA), se incrementan en tejidos vegetales frente a estrés abiótico y particularmente frente a estrés hídrico, sugiriendo que ABA juega un importante rol integrando las señales de varios estreses (Tuteja,

2007). Sin embargo, también se ha observado la activación de genes que no responden a ABA, sugiriendo que las respuestas a estrés abiótico ocurren a través de vías de señalización que pueden ser dependientes y/o independientes de la acción de ABA (Nakashima *et al.*, 2014). La mayoría de los genes de respuesta a estrés abiótico se agrupan en tres categorías: genes reguladores que median la respuesta de otros genes como los factores de transcripción (FT), genes que participan en las rutas de transducción de señales durante la respuesta al estrés y genes que protegen la célula directamente del daño por estrés (Tran *et al.*, 2007; Nakashima *et al.*, 2014).

En relación con los FT se puede identificar al menos cuatro grupos de genes controlados por FTs conocidos como regulones (**Figura 4.1**): se distinguen la secuencia de reconocimiento NAC (NACR) identificados como esenciales para activar al gen ERD1 (por su sigla en inglés, Early Responsive to Dehydration Stress 1) en respuesta a estrés osmótico (Tran *et al.*, 2007). El regulón AREB/ABF a través del elemento de respuesta a ABA (ABRE), activa la expresión de los genes

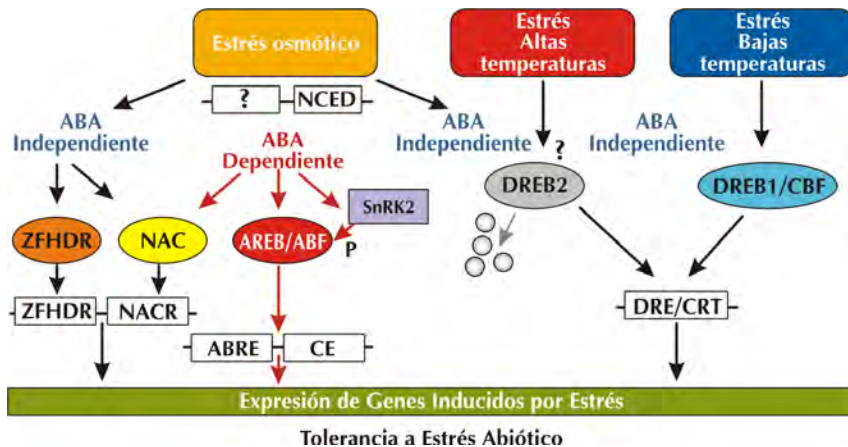


Figura 4.1. Red de regulación transcripcional de elementos de activación en cis y factores de transcripción involucrados en la respuesta a estrés abiótico en la expresión génica en *Arabidopsis thaliana* (adaptado de Nakashima *et al.*, 2009).

dependientes de ABA (Peleg y Blumwald, 2011). Por otra parte, el regulón DREB2 responde tanto a estrés osmótico como térmico, como DREB2A-CA que induce la expresión de genes relacionados con shock térmico, como HSP (por su sigla en inglés, Heat Shock Protein) mejorando la termo-tolerancia (Sakuma *et al.*, 2006; Nakashima *et al.*, 2009). El regulón DREB1/CBF que está involucrado principalmente en las respuestas a bajas temperaturas es altamente conservado en plantas, incluye FTs que actúan en cis a través del elemento tipo DRE/CTR (por su sigla en inglés, Dehydration-Resposive Element/C-repeat), los cuales activan la expresión de varios otros genes que codifican proteínas involucradas en la producción de osmoprotectores, antioxidantes y otros tipos de respuesta (Yamaguchi-Shinozaki y Shinozaki, 1994; Saibo *et al.*, 2009).

REGULÓN DREB1/CBF Y ESTRÉS ABIÓTICO EN PAPAS

Un estudio de micro arreglo que evaluó el regulón DREB1/CBF y el efecto de bajas temperaturas en dos especies de papas, que difieren significativamente en su tolerancia a heladas: *S. tuberosum* una especie sensible a temperaturas inferiores a -3°C y *Solanum commersonii* Dun capaz de incrementar su tolerancia a heladas en respuesta a bajas temperaturas (desde -4°C a -10°C) mostró diferencias interesantes en la expresión de genes (Carvallo *et al.*, 2011). Ambas especies mostraron alteraciones a nivel de expresión génica al ser expuestas a bajas temperaturas. Se observaron diferencias significativas en términos de los grupos de genes activados y en la respuesta del regulón DREB1/CBF; destacando algunos genes como HSP60, LEA14, RD26, SUS1, HSFA8, COR47, ERD14 también identificados en *Arabidopsis* en respuesta a bajas temperaturas. Mientras en *S. commersonii* se identificaron 160 ESTs asociados al regulon CBF, en *S. tuberosum* se identificaron 170 ESTs, compartiendo sólo 54 ESTs en común (Carvallo *et al.*, 2011). Otros estudios también en papas y estrés abiótico han sugerido que DREB1/CBF cumpliría un rol relevante en tolerancia a bajas temperaturas y estrés hídrico (Pino *et al.*, 2007, 2008, 2013; Movahedi *et al.*, 2012; Bouaziz *et al.*, 2013).

DEHIDRINAS (DHNs) Y ESTRÉS ABIÓTICO EN PAPAS

El grupo 2 de proteínas LEA, llamadas deshidratinas (DHNs), es común encontrarlo en células embrionarias de semillas. Algunas de ellas son inducibles por ABA y/o sintetizadas en respuesta a varios tipos de estreses abióticos incluyendo sequía, bajas temperaturas y salinidad (Close, 1997). Las DHNs se caracterizan porque en su estructura tienen un dominio rico en lisina con 15 aminoácidos altamente conservado, EKKGIMDKIKEKLPG, denominado el segmento K. También presenta una cadena de residuos de Ser (el segmento S), un motivo de consenso, T/VDEYGNP (el segmento Y), y regiones menos conservadas, ricas en aminoácidos polares (segmentos Φ). Las DHNs se clasifican en 5 grupos: YnSKn, YnKn, SKn, Kn y KnS. Las DHNs de los grupos YnSKn y YnKn, han sido asociadas principalmente a estrés hídrico, mientras que las DHNs del grupo SKn han sido asociadas a estrés hídrico y estrés por bajas temperaturas. Aun cuando se desconoce su rol con exactitud, se sugiere que participan en la protección celular contra la deshidratación. Se han descrito varias funciones en las que podrían estar involucradas, como la estabilización de membranas mediante interacciones hidrofóbicas con los segmentos K, como chaperonas impidiendo la agregación de proteínas, en la protección de la maquinaria transcripcional, viabilidad de la semilla, protección al citoesqueleto y como antioxidantes debido a su capacidad para unir iones de metales libres (Allagulova *et al.*, 2003; Olvera-Carrillo *et al.*, 2010). La expresión de DHNs en respuesta a estrés abiótico ha sido descrita en varias especies como *Arabidopsis* (Olvera-Carrillo *et al.*, 2010), trigo (Kobayashi *et al.*, 2005; Kume *et al.*, 2005), tabaco (Wang *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2009) y papas. En estas últimas, se ha observado expresión de DHNs en papas transgénicas sobre-expresando FT del tipo CBF bajo estrés por bajas temperaturas y estrés hídrico *in vitro* (Pino *et al.*, 2008; Pino *et al.*, 2013). Otro estudio reciente en papa, que evaluó el efecto de estrés salino e hídrico en plántulas *in vitro* (PEG8000), mostró expresión de los genes StDHN2a, StDHN1 y StDHN25 en los tratamientos bajo estrés (Charfeddine *et al.*, 2015).

GENES RELACIONADOS CON SHOCK TÉRMICO Y ESTRÉS ABIÓTICO EN PAPAS

Un estudio también en papa, que evaluó la respuesta a estrés por sequía en diferentes accesiones de *S. tuberosum ssp. Andigena* mostró que HPS cumplían una función importante en la adaptación y aclimatación (Watkinson *et al.*, 2006). Luego, otro estudio que evaluó genotipos de papas tolerantes a sequía (Sullu & SA2563) en conjunto con reportar la expresión de HSP, también mostró la expresión de genes anti-oxidantes, flavonoides, LEAs, con otros genes envueltos en ajuste osmótico y en el metabolismo de carbohidratos (Schafleitner *et al.*, 2007). Por otra parte, al estrés por altas temperaturas en plantas, se han asociado cuatro categorías de genes: HSP, genes que intervienen en la vía de síntesis de osmolitos, genes de enzimas regulando la fluidez de la membrana y de enzimas manteniendo ROS (Grover *et al.*, 2013; Lavania *et al.*, 2015).

OTROS GENES ASOCIADOS A ESTRÉS ABIÓTICO EN PAPAS

En papas, algunos estudios han identificado genes que codifican para enzimas que sintetizan osmoprotectores que cumplen un rol fundamental a nivel celular en la mantención de los potenciales hídricos. Algunos ejemplos de este tipo de genes son: P5CS (por su sigla en inglés, Pyrroline carboxylate synthase), precursor de la síntesis de prolina y asociado a la respuesta a salinidad (Hmida-Sayari *et al.*, 2005) y a la acumulación de fructanos SST/FFT (por su sigla en inglés, Sucrose 1-Fructosyl Transferase/Fructan 1-Fructosyl Transferase) (Knipp y Honermeier, 2006). En la **Tabla 4.1**, se listan varios genes que han sido estudiados y sobre-expresado en papas, en respuesta a estrés abiótico.

Tabla 4.1. Genes relacionados con estrés abiótico evaluados en papas transgénicas.

Gen	Origen	Función	Tolerancia a estrés abiótico	Referencias
Genes involucrados en la regulación de procesos metabólicos				
CaPF1	<i>Capsicum annuum</i>	Factor de transcripción de respuesta a etileno tipo ERF/AP2	Estrés abiótico, principalmente estrés oxidativo.	Youm et al., 2008
NIDPK1	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Nucleósido Difosfato Quinasa 2	Resistencia a múltiples estreses (oxidativo, salino y por altas temperaturas)	Tang et al., 2008
AtCBF1-3/ DREB1B, 1A,1C	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Factor de transcripción que induce la expresión de genes de respuesta a frío (genes COR)	Aumento en la tolerancia a estrés por heladas	Pino et al., 2007
AtCBF1/ DREB1B	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Factor de transcripción que induce la expresión de genes de respuesta a frío (genes COR)	Aumento en la tolerancia a estrés por heladas	Pino et al., 2008
DREB1B/ AtCBF1	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Factor de transcripción activador en respuesta a deshidratación	Incremento en la tolerancia a estrés por sequía y congelación.	Movahedi et al., 2012
ScCBF1/ ScDREB1B	<i>Solanum commersonii</i>	Factor de transcripción que induce osmoprotectores	Incremento en la tolerancia a estrés por sequía <i>In vitro</i>	Pino et al., 2013
StDREB1/ CBF	<i>Solanum tuberosum</i>	Factor de transcripción activador en respuesta a deshidratación	Aumento en la tolerancia en condiciones de estrés salino.	Bouaziz et al., 2013

Continuación Tabla 4.1. Genes relacionados con estrés abiótico evaluados en papas transgénicas.

Gen	Origen	Función	Tolerancia a estrés abiótico	Referencias
Genes involucrados en la biosíntesis de osmolitos y metabolitos				
SST/FFT	<i>Cynara scolymus</i> (alcachofa)	Acumulación de Fructanos	Estrés hídrico	Knipp y Honermeier, 2006 Hellwege et al., 2000
TPS1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (levadura)	Síntesis de Trehalosa	Retraso de los síntomas de marchitez en estrés por sequía	Stiller et al., 2008
CodA	<i>Arthrobacter globiformis</i> (bacteria)	Síntesis de Glicina-Betaina (GB) en cloroplastos	Aumento en la tolerancia a estrés oxidativo, salino y por sequía	Ahmad et al., 2008
P5CS	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Síntesis de Prolina	Aumento en la tolerancia a estrés salino	Hmida-Sayari et al., 2005
BADH	<i>Spinacia oleracea</i> (espinaca)	Betaina Aldehído Deshidrogenasa involucrada en la síntesis de Glicina-Betaina	Incremento en la tolerancia a estrés salino y por sequía	Zhang et al., 2011
mtID	<i>Escherichia coli</i> (bacteria)	Biosíntesis de manitol	Aumento en la tolerancia a estrés salino	Rahnama et al., 2011
GalUR	<i>Fragaria x ananassa</i> (frutilla)	Biosíntesis de ascorbato (Vit C)	Mayor tolerancia en condiciones de estrés oxidativo y salino.	Upadhyaya et al., 2011 Upadhyaya et al., 2009

Continuación Tabla 4.1. Genes relacionados con estrés abiótico evaluados en papas transgénicas.

Gen	Origen	Función	Tolerancia a estrés abiótico	Referencias
desA	<i>Synechocystis</i> sp. (Cianobacteria)	Enzima $\Delta 12$ -desaturasa (desA) involucrada en la síntesis de ácido linoleico	Mayor tolerancia a bajas temperaturas (7°C)	Amiri et al., 2010
GR1	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Enzima glutatión reductasa (GR) involucrada en la síntesis de glutatión	Mayor tolerancia a estrés oxidativo y por metales pesados (Cadmio)	Eltayeb et al., 2010
Otros genes				
Cu/Zn SOD superoxide dismutases	<i>Lycopersicon esculentum</i> (tomate)	Incremento en la defensa frente a estrés oxidativo	Tolerancia a estrés osmótico y por sequía	Perl et al., 1993
MSP-As	<i>Solanum Tuberosum</i> (papa)	Proteína estabilizadora de Manganeso (MSP) componente del Fotosistema II.	Papas transgénicas con reducidos niveles de MSP-As presentan mayor tolerancia a estrés osmótico, salino y toxicidad por metales pesados	Gururani et al., 2013 Gururani et al., 2012
A1DHAR1	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Integridad de membrana y protección frente a la degradación de clorofila mediante la remoción rápida de H ₂ O ₂	Incremento en la tolerancia a estrés por herbicida, sequía y estrés salino	Eltayeb et al., 2011
PaSOD	<i>Potentilla atrosanguinea</i> (flor)	Cataliza la dismutación del radical superóxido (O ₂ ⁻) en H ₂ O ₂ y O ₂	Mayor tolerancia en estrés por sequía	Pal et al., 2013
2-Cys Prx	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Enzima 2-cisteína peroxiredoxina involucrada en la remoción de peróxidos y protección de membrana	Aumento en la tolerancia a estrés oxidativo y por altas temperaturas	Kim et al., 2011

HERRAMIENTAS UTILIZADAS EN EL ESTUDIO DE GENES RELEVANTES PARA LA TOLERANCIA Y LA ADAPTACIÓN DE LAS PLANTAS A ESTRÉS ABIÓTICO Y ALGUNOS EJEMPLOS EN PAPAS

El principal objetivo de la mayoría de los estudios de la funcionalidad de genes asociados a estrés abiótico ha sido entender este tipo de estrés a nivel molecular e identificar genes relevantes para la tolerancia y adaptación de las plantas ya sea a sequía o temperaturas extremas entre otros. El uso de herramientas genómicas y su asociación con la respuesta fisiológica de la tolerancia a estrés abiótico, permitirá diseños más apropiados para futuros programas de mejoramiento en papa.

Actualmente cientos de genes han sido caracterizados y asociados a diferentes tipos de estrés en plantas. Esta información ha mejorado significativamente con la consolidación de los “Proyectos Genomas” en 35 especies vegetales, siendo la papa una de ellas (<http://www.sgn.cornell.edu/>). Desde el año 2006, el Consorcio de Secuenciación del Genoma de la Papa (PGSC) ha trabajado en dilucidar la secuencia completa de ADN en esta especie. El Consorcio PGSC, en el cual participa nuestro país, ha logrado grandes avances en el tema permitiendo disponer hoy del 95% de los genes de la papa (*S. tuberosum* grupo Phureja), con una cobertura de 70x, actualmente disponible para el público en el link www.potatogenome.net (Potato Genome Sequencing Consortium, 2011). Para que esta información sea útil en futuras aplicaciones en el mejoramiento de la papa, es fundamental determinar la función que desempeña cada secuencia del genoma, es decir, identificar cada uno de sus genes y conocer su función.

La identificación de genes asociados a estrés abiótico se ha basado principalmente en la búsqueda de vinculaciones génicas por homología mediante la comparación de secuencias, y en la identificación de determinadas características comunes (señales funcionales, patrones y dominios). Para la búsqueda de genes, existen tres importantes bases de datos internacionales (EMBL-Bank, DDBJ y GenBank de

NCBI), las cuales recopilan todas las secuencias caracterizadas de nucleótidos que son de dominio público. Las tres bases de datos son accesibles gratuitamente por internet y se sincronizan entre ellas cada 24 horas, por lo que contienen exactamente la misma información (www.ncbi.nlm.nih.gov). A través de estas bases de datos es posible acceder a ESTs (por su sigla en inglés, Expressed Sequence Tag) o secuencias ORF (por su sigla en inglés, Open Reading Frame), obtenidas a partir de plántulas, órganos o tejidos sometidos a distintos tratamientos de estrés abiótico.

Otras aproximaciones que permiten identificar genes con respecto a su función, es la técnica de PCR en tiempo real. Esta metodología permite cuantificar la expresión de los genes mediante el uso de sondas fluorescentes en la amplificación de los transcritos de interés con respecto a genes de expresión constitutiva. A través de esta técnica es posible cuantificar genes específicos a partir de muestras de ARN mensajero provenientes de diferentes condiciones experimentales (Bustin *et al.*, 2005; Dorak, 2006). Su amplio uso en investigación se debe principalmente a la simplicidad de la técnica, especificidad y alta sensibilidad en la cuantificación de los niveles de expresión génica (mayor información en plataforma www.gene-quantification.de). En papas, el uso de PCR en tiempo real ha permitido relacionar distintos procesos fisiológicos de tolerancia a estrés abiótico con la expresión de genes involucrados en la percepción del estrés, la transducción de señales, la regulación y expresión de genes efectores.

A diferencia del análisis específico acotado a algunos genes, que permite la técnica de PCR en tiempo real, el uso de los **micro y macro arreglos**, ha permitido el análisis simultáneo de miles de genes en condiciones experimentales distintas. Como, por ejemplo, tejidos de plantas estresadas con respecto a no estresadas (controles) en diferentes estados de desarrollo (Chen *et al.*, 2002; Oh *et al.*, 2005; Sreenivasulu *et al.*, 2007). La versatilidad de esta técnica se basa en la capacidad de las moléculas complementarias de ADN de hibridar entre sí, permitiendo establecer perfiles de expresión diferencial utilizando sondas fluorescentes y una pequeña matriz sólida (Seki *et al.*, 2009). Investigaciones realizadas usando micro arreglos en papa con sobre 12.000 clones de cDNA, han permitido capturar

el perfil de expresión de plántulas sometidas a estrés por frío, altas temperaturas y salino en distintos tiempos y distintos tejidos (raíces y hojas). Los datos obtenidos han permitido identificar cientos de genes relacionados con los distintos tipos de estrés abiótico, muchos de ellos desconocidos, generando nuevas interrogantes para responder en futuros estudios de investigación genética en papas (Rensink *et al.*, 2005; Carvallo *et al.*, 2011).

La transformación genética (transgénesis,) es otra herramienta que permite desarrollar plantas tolerantes a estrés abiótico, esta técnica permitirá comprender si la expresión de diferentes tipos de genes puede incrementar la tolerancia a un determinado estrés, o concluir si los cultivares obtenidos vía transformación genética son verdaderamente tolerantes desde el punto de vista agronómico. Sin embargo, es importante considerar que la transgénesis, con casi 30 años de desarrollo, aún presentan dificultades en lograr la correcta inserción del gen de interés en el lugar exacto. Más allá de eso, lograr el perfecto equilibrio entre promotores/silenciadores y la regulación de la expresión en todo el genoma aun es un desafío. Actualmente, las nuevas tecnologías apuntan a sintetizar de novo segmentos de la molécula de ADN, empaquetarla en el equivalente a un minicromosoma artificial e introducirlo al genoma de interés (Montoya *et al.*, 2014). Sin embargo, dado que la tolerancia a estrés abiótico es regulada por varios genes, la transformación genética con varios genes es uno de los actuales desafíos de la ingeniería genética.

El silenciamiento génico post-transcripcional, o también conocido como ARN de interferencia (ARNi), es un mecanismo natural que ocurre en plantas y en la mayoría de eucariontes como parte del proceso de regulación génica. El conocimiento de este mecanismo celular y su manipulación, han permitido dirigir el silenciamiento de genes de manera específica, permitiendo discriminar genes claves para procesos de interés como es la tolerancia a estrés abiótico (Jagtap *et al.*, 2011). Mediante esta técnica, cualquier gen del que se conozca su secuencia nucleotídica puede ser diana para el diseño de ARNi, constituyendo una potente herramienta en el estudio de la función de genes en procesos fisiológicos de tolerancia a estrés abiótico. En papas, a través de ARNi se silenció la expresión del

gen caroteno dioxigenasa en papas (CCD4) identificando su rol en la respuesta a estrés por altas temperaturas (Campbell *et al.*, 2010). Este tipo de análisis permite conocer además si la regulación génica es controlada al nivel de la transcripción, traducción, si es una modificación pos-traducciona l o por acumulación de proteínas.

La identificación de mutantes, especialmente mutantes de inserción, alterados en el nivel de tolerancia a la sequía, pueden ser particularmente útiles en la identificación de genes claves o esenciales involucrados en diferentes mecanismos de tolerancia. Actualmente, el esfuerzo en conjunto de varios centros de investigación (TAIR, ABRC y SIGnal) ha permitido disponer de un banco de mutantes insercionales en *Arabidopsis thaliana* con libre acceso y sin costo asociado. La colección es sustentada por donaciones de investigadores de todas partes del mundo que incluyen un stock de cerca de un millón de semillas con mutaciones puntuales generadas por la inserción de un ADN-T o transposon en genes específicos, cubriendo el 95,3% de los genes descritos en *Arabidopsis* (<http://signal.salk.edu/>). El análisis fenotípico y molecular de aquellos mutantes en *Arabidopsis* que presenten variaciones en la tolerancia a estrés abiótico, permite identificar genes de interés en otras especies vegetales, como en papa, a través del análisis de homología y comparación en sus secuencias nucleotídicas. Estudios fisiológicos más profundos y el uso de aproximaciones proteómicas o de transcriptomas para esos mutantes podrían proveer información de gran valor en el tipo de proceso fisiológico que alteran.

Así, el uso de herramientas genómicas y su asociación con la respuesta fisiológica de la tolerancia a estrés abiótico con el mejoramiento convencional, permitirá diseños más apropiados para futuros programas de mejoramiento en papa.

LITERATURA CONSULTADA

- Ahmad, R., Kim, M. D., Back, K. H., Kim, H. S., Lee, H. S., Kwon, S.Y., Murata, N., Chung, W-II., and Kwak, S. S. (2008).** Stress-induced expression of choline oxidase in potato plant chloroplasts confers enhanced tolerance to oxidative, salt, and drought stresses. *Plant Cell Reports*, 27(4), 687-698.
- Allagulova, C. R., Gimalov, F. R., Shakirova, F. M., and Vakhitov, V. A. (2003).** The plant dehydrins: structure and putative functions. *Biochemistry (Moscow)*, 68(9), 945-951.
- Amiri, R. M., Yur'eva, N. O., Shimshilashvili, K. R., Goldenkova-Pavlova, I. V., Pchelkin, V. P., Kuznitsova, E. I., Tsydendambaev, V. D., Trunova, T. I., Los, D. A., Jouzani, G. S., and Nosov, A. M. (2010).** Expression of Acyl-lipid $\Delta 12$ -desaturase Gene in Prokaryotic and Eukaryotic Cells and Its Effect on Cold Stress Tolerance of Potato. *Journal of Integrative Plant Biology*, 52(3), 289-297.
- Bouaziz, D., Pirrello, J., Charfeddine, M., Hammami, A., Jbir, R., Dhieb, A., Bouzayen, M., and Gargouri-Bouzid, R. (2013).** Overexpression of StDREB1 transcription factor increases tolerance to salt in transgenic potato plants. *Molecular Biotechnology*, 54(3), 803-817.
- Bustin, S. A., Benes, V., Nolan, T., and Pfaffl, M. W. (2005).** Quantitative real-time RT-PCR—a perspective. *Journal of Molecular Endocrinology*, 34(3), 597-601.
- Campbell, R., Ducreux, L. J., Morris, W. L., Morris, J. A., Suttle, J. C., Ramsay, G., Bryan, G.J., Hedley, P.E., and Taylor, M. A. (2010).** The metabolic and developmental roles of carotenoid cleavage dioxygenase4 from potato. *Plant Physiology*, 154(2), 656-664.

- Carvalho, M. A., Pino, M. T., Jeknic, Z., Zou, C., Doherty, C. J., Shiu, S. H., and Thomashow, M. F. (2011).** A comparison of the low temperature transcriptomes and CBF regulons of three plant species that differ in freezing tolerance: *Solanum commersonii*, *Solanum tuberosum*, and *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*, 62, 3807–3819.
- Charfeddine, S., Saïdi, M. N., Charfeddine, M., and Gargouri-Bouزيد, R. (2015).** Genome-wide identification and expression profiling of the late embryogenesis abundant genes in potato with emphasis on dehydrins. *Molecular Biology Reports*, 42, 1163–1174. doi: 10.1007/s11033-015-3853-2.
- Chen, Y., Kamat, V., Dougherty, E. R., Bittner, M. L., Meltzer, P. S., and Trent, J. M. (2002).** Ratio statistics of gene expression levels and applications to microarray data analysis. *Bioinformatics*, 18(9), 1207-1215.
- Close, T. J. (1997).** Dehydrins: a commonality in the response of plants to dehydration and low temperature. *Physiologia Plantarum*, 100(2), 291-296.
- Dorak, M. T. (2006).** Real-Time PCR -Advanced Methods Series. Taylor and Francis Group, Oxford. New York. 362pp.
- Eltayeb, A. E., Yamamoto, S., Habora, M. E. E., Matsukubo, Y., Aono, M., Tsujimoto, H., and Tanaka, K. (2010).** Greater protection against oxidative damages imposed by various environmental stresses in transgenic potato with higher level of reduced glutathione. *Breeding Science*, 60(2), 101-109.
- Eltayeb, A. E., Yamamoto, S., Habora, M. E. E., Yin, L., Tsujimoto, H., and Tanaka, K. (2011).** Transgenic potato overexpressing *Arabidopsis cytosolic* AtDHAR1 showed higher tolerance to herbicide, drought and salt stresses. *Breeding Science*, 61(1), 3-10.

- Fraire-Velázquez, S., Rodríguez-Guerra, R., and Sánchez-Calderón, L. (2011).** Abiotic and Biotic Stress Response Crosstalk in Plants. *In: Abiotic Stress Response in Plants - Physiological, Biochemical and Genetic Perspectives*, Arun Shanker and B. Venkateswarlu (Eds.), ISBN: 978-953-307-672-0, InTech, (1) 3-25. <http://www.intechopen.com/books/abiotic-stress-response-in-plants-physiological-biochemical-and-geneticperspectives/>
- Grover, A., Mittal, D., Negi, M., and Lavania, D. (2013).** Generating high temperature tolerant transgenic plants: Achievements and challenges. *Plant Science*, 205, 38-47.
- Gururani, M. A., Upadhyaya, C. P., Strasser, R. J., Woong, Y. J., and Park, S. W. (2012).** Physiological and biochemical responses of transgenic potato plants with altered expression of PSII manganese stabilizing protein. *Plant Physiology and Biochemistry*, 58, 182-194.
- Gururani, M. A., Upadhyaya, C. P., Strasser, R. J., Yu, J. W., and Park, S. W. (2013).** Evaluation of abiotic stress tolerance in transgenic potato plants with reduced expression of PSII manganese stabilizing protein. *Plant Science*, 198, 7-16.
- Hellwege, E. M., Czaplá, S., Jahnke, A., Willmitzer, L., and Heyer, A. G. (2000).** Transgenic potato (*Solanum tuberosum*) tubers synthesize the full spectrum of inulin molecules naturally occurring in globe artichoke (*Cynara scolymus*) roots. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(15), 8699-8704.
- Hmida-Sayari, A., Gargouri-Bouزيد, R., Bidani, A., Jaoua, L., Savouré, A., and Jaoua, S. (2005).** Overexpression of Δ 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers salt tolerance in transgenic potato plants. *Plant Science*, 169(4), 746-752.

- Hu, X. J., Zhang, Z. B., Xu, P., Fu, Z. Y., Hu, S. B., and Song, W. Y. (2010).** Multifunctional genes: the cross-talk among the regulation networks of abiotic stress responses. *Biologia Plantarum*, 54(2), 213-223.
- Jagtap, U. B., Gurav, R. G., and Bapat, V. A. (2011).** Role of RNA interference in plant improvement. *Naturwissenschaften*, 98(6), 473-492.
- Kim, M. D., Kim, Y. H., Kwon, S. Y., Jang, B. Y., Lee, S. Y., Yun, D. J., Cho, J-H., Kwak, S-S., and Lee, H. S. (2011).** Overexpression of 2-cysteine peroxiredoxin enhances tolerance to methyl viologen-mediated oxidative stress and high temperature in potato plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(8), 891-897.
- Knipp, G., and Honermeier, B. (2006).** Effect of water stress on proline accumulation of genetically modified potatoes (*Solanum tuberosum* L.) generating fructans. *Journal of Plant Physiology*, 163(4), 392-397.
- Kobayashi, F., Takumi, S., Kume, S., Ishibashi, M., Ohno, R., Murai, K., and Nakamura, C. (2005).** Regulation by Vrn-1/Fr-1 chromosomal intervals of CBF-mediated Cor/Lea gene expression and freezing tolerance in common wheat. *Journal of Experimental Botany*, 56(413), 887-895.
- Kume, S., Kobayashi, F., Ishibashi, M., Ohno, R., Nakamura, C., and Takumi, S. (2005).** Differential and coordinated expression of Cbf and Cor/Lea genes during long-term cold acclimation in two wheat cultivars showing distinct levels of freezing tolerance. *Genes and Genetic Systems*, 80(3), 185-197.
- Lavana, D., Dhingra, A., Siddiqui, M. H., Al-Wahaibi, M. H., and Grover, A. (2015).** Current status of the production of high temperature tolerant transgenic crops for cultivation in warmer climates. *Plant Physiology and Biochemistry*, 86, 100-108.

- Liu, X., Wang, Z., Wang, L., Wu, R., Phillips, J., and Deng, X. (2009).** LEA 4 group genes from the resurrection plant *Boea hygrometrica* confer dehydration tolerance in transgenic tobacco. *Plant Science*, 176(1), 90-98.
- Mahajan, S., and Tuteja, N. (2005).** Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444(2), 139-158.
- Montoya, C., Ávila, K., Reyes, P., Navia, M., and Romero, H. M. (2014).** Secuenciación del genoma de las especies vegetales: implicaciones y perspectivas. *Revista Palmas*, 35(3), 11-22.
- Movahedi, S., Tabatabaei, B. S., Alizade, H., Ghobadi, C., Yamchi, A., and Khaksar, G. (2012).** Constitutive expression of Arabidopsis DREB1B in transgenic potato enhances drought and freezing tolerance. *Biologia Plantarum*, 56(1), 37-42.
- Nakashima, K., Ito, Y., and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2009).** Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stresses in Arabidopsis and grasses. *Plant Physiology*, 149(1), 88-95.
- Nakashima, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., and Shinozaki, K. (2014).** The transcriptional regulatory network in the drought response and its crosstalk in abiotic stress responses including drought, cold, and heat. *Frontiers in Plant Science*, 5, 170. <http://doi.org/10.3389/fpls.2014.00170>.
- Oh, S. J., Song, S. I., Kim, Y. S., Jang, H. J., Kim, S. Y., Kim, M., Kim, Y.K, Nahm, B.H., and Kim, J. K. (2005).** Arabidopsis CBF3/DREB1A and ABF3 intragenic rice increased tolerance to abiotic stress without stunting growth. *Plant Physiology*, 138(1), 341-351.
- Olvera-Carrillo, Y., Campos, F., Reyes, J. L., Garcarrubio, A., and Covarrubias, A. A. (2010).** Functional analysis of the group 4 late embryogenesis abundant proteins reveals their relevance in the adaptive response during water deficit in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 154(1), 373-390.

- Pal, A. K., Acharya, K., Vats, S. K., Kumar, S., and Ahuja, P. S. (2013).** Over-expression of PaSOD in transgenic potato enhances photosynthetic performance under drought. *Biologia Plantarum*, 57(2), 359-364.
- Peleg, Z., and Blumwald, E. (2011).** Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 14(3), 290-295.
- Perl, A., Perl-Treves, R., Galili, S., Aviv, D., Shalgi, E., Malkin, S., and Galun, E. (1993).** Enhanced oxidative-stress defense in transgenic potato expressing tomato Cu, Zn superoxide dismutases. *Theoretical and Applied Genetics*, 85(5), 568-576.
- Pino, M. T., Skinner, J. S., Park, E. J., Jeknic, Z., Hayes, P. M., Thomashow, M. F., and Chen, T. H. (2007).** Use of a stress inducible promoter to drive ectopic AtCBF expression improves potato freezing tolerance while minimizing negative effects on tuber yield. *Plant Biotechnology Journal*, 5(5), 591-604.
- Pino, M. T., Skinner, J. S., Jeknic, Z., Hayes, P. M., Soeldner, A. H., Thomashow, M. F., and Chen, T. H. (2008).** Ectopic AtCBF1 over-expression enhances freezing tolerance and induces cold acclimation-associated physiological modifications in potato. *Plant, Cell and Environment*, 31(4), 393-406.
- Pino, M. T., Ávila, A., Molina, A., Jeknic, Z., and Chen, T.H.H. (2013).** Enhanced *in vitro* drought tolerance of *Solanum tuberosum* and *Solanum commersonii* plants overexpressing the ScCBF1 gene. *Cien. Inv. Agr*, 40, 171-184.
- Potato Genome Sequencing Consortium. (2011).** Genome sequence and analysis of the tuber crop potato. *Nature*, 475(7355), 189-195.
- Rahnama, H., Vakilian, H., Fahimi, H., and Ghareyazie, B. (2011).** Enhanced salt stress tolerance in transgenic potato plants (*Solanum tuberosum* L.) expressing a bacterial mtID gene. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(4), 1521-1532.

- Rensink, W. A., Iobst, S., Hart, A., Stegalkina, S., Liu, J., and Buell, C. R. (2005).** Gene expression profiling of potato responses to cold, heat, and salt stress. *Functional and Integrative Genomics*, 5(4), 201-207.
- Saibo, N. J., Lourenço, T., and Oliveira, M. M. (2009).** Transcription factors and regulation of photosynthetic and related metabolism under environmental stresses. *Annals of Botany*, 103(4), 609-623.
- Sakuma, Y., Maruyama, K., Qin, F., Osakabe, Y., Shinozaki, K., and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2006).** Dual function of an Arabidopsis transcription factor DREB2A in water-stress-responsive and heat-stress-responsive gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(49), 18822-18827.
- Schafleitner, R., Gutierrez, R., Espino, R., Gaudin, A., Pérez, J., Martínez, M., Domínguez, A., Tincopa, L., Alvarado, C., Numberto, G., and Bonierbale, M. (2007).** Field screening for variation of drought tolerance in *Solanum tuberosum* L. by agronomical, physiological and genetic analysis. *Potato Research*, 50(1), 71-85. doi: 10.1007/s11540-007-9030-9.
- Seki, M., Okamoto, M., Matsui, A., Kim, J. M., Kurihara, Y., Ishida, J., Morosawa, T., Kawashima, M., To, T., and Shinozaki, K. (2009).** Microarray analysis for studying the abiotic stress responses in plants. *In: Molecular techniques in crop improvement*. Jain, S.M. and Brar, D.S. (Eds), Springer, Amsterdam, The Netherlands, 333-355.
- Shin, D., Moon, S. J., Han, S., Kim, B. G., Park, S. R., Lee, S. K., Yoon, H.-J., Lee, H.E., Kwon, H.-B., Baek, D., Yi, B.Y., and Byun, M. O. (2011).** Expression of StMYB1R-1, a novel potato single MYB-like domain transcription factor, increases drought tolerance. *Plant Physiology*, 155(1), 421-432.
- Sreenivasulu, N., Sopory, S. K., and Kishor, P. K. (2007).** Deciphering the regulatory mechanisms of abiotic stress tolerance in plants by genomic approaches. *Gene*, 388(1), 1-13.

- Stiller, I., Dulai, S., Kondrák, M., Tarnai, R., Szabó, L., Toldi, O., and Bánfalvi, Z. (2008).** Effects of drought on water content and photosynthetic parameters in potato plants expressing the trehalose-6-phosphate synthase gene of *Saccharomyces cerevisiae*. *Planta*, 227(2), 299-308.
- Tang, L., Kim, M. D., Yang, K. S., Kwon, S. Y., Kim, S. H., Kim, J. S., Yun, D.J., Kwak, S.S., and Lee, H. S. (2008).** Enhanced tolerance of transgenic potato plants overexpressing nucleoside diphosphate kinase 2 against multiple environmental stresses. *Transgenic Research*, 17(4), 705-715.
- Tran, L. S. P., Nakashima, K., Sakuma, Y., Osakabe, Y., Qin, F., Simpson, S. D., Maruyama, K., Fujita, Y., Shinozaki, K., and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2007).** Co-expression of the stress-inducible zinc finger homeodomain ZFHD1 and NAC transcription factors enhances expression of the ERD1 gene in Arabidopsis. *The Plant Journal*, 49(1), 46-63.
- Tuteja, N. (2007).** Abscisic acid and abiotic stress signaling. *Plant Signaling and Behavior*, 2(3), 135-138.
- Upadhyaya, C. P., Young, K. E., Akula, N., Kim, H., Heung, J. J., Oh, O. M., Aswath, C.R., Chun, S.C., Kim, D.H., and Park, S. W. (2009).** Over-expression of strawberry D-galacturonic acid reductase in potato leads to accumulation of vitamin C with enhanced abiotic stress tolerance. *Plant Science*, 177(6), 659-667.
- Upadhyaya, C. P., Venkatesh, J., Gururani, M. A., Asnin, L., Sharma, K., Ajappala, H., and Park, S. W. (2011).** Transgenic potato over-producing L-ascorbic acid resisted an increase in methylglyoxal under salinity stress via maintaining higher reduced glutathione level and glyoxalase enzyme activity. *Biotechnology Letters*, 33(11), 2297-2307.

- Wang, Y., Jiang, J., Zhao, X., Liu, G., Yang, C., and Zhan, L. (2006).** A novel LEA gene from *Tamarix androssowii* confers drought tolerance in transgenic tobacco. *Plant Science*, 171(6), 655-662.
- Watkinson, J. I., Hendricks, L., Sioson, A. A., Vasquez-Robinet, C., Stromberg, V., Heath, L. S., Schuler, M., Bohnert, H.J., Bonierbale, M., and Grene, R. (2006).** Accessions of *Solanum tuberosum ssp. andigena* show differences in photosynthetic recovery after drought stress as reflected in gene expression profiles. *Plant Science*, 171(6), 745-758.
- Yamaguchi-Shinozaki, K., and Shinozaki, K. (1994).** A novel cis-acting element in an Arabidopsis gene is involved in responsiveness to drought, low-temperature, or high-salt stress. *The Plant Cell*, 6(2), 251-264.
- Youm, J. W., Jeon, J. H., Choi, D., Yi, S. Y., Joung, H., and Kim, H. S. (2008).** Ectopic expression of pepper CaPF1 in potato enhances multiple stresses tolerance and delays initiation of *in vitro* tuberization. *Planta*, 228(4), 701-708.
- Zhang, N., Si, H. J., Wen, G., Du, H. H., Liu, B. L., and Wang, D. (2011).** Enhanced drought and salinity tolerance in transgenic potato plants with a BADH gene from spinach. *Plant Biotechnology Reports*, 5(1), 71-77.

INTERCAMBIO GASEOSO EN PAPAS BAJO ESTRÉS HÍDRICO Y ELEVADA CONCENTRACIÓN DE CO₂ EN LA ATMÓSFERA

Carolina Salazar
Paulina Romero
Paulina Villagra

Según las proyecciones cambio climático, en conjunto con una disminución en las precipitaciones a nivel global, se proyecta un aumento en las temperaturas promedio y en los niveles de CO₂ en la atmósfera. Al final de este siglo, la concentración de CO₂ en la atmósfera aumentaría significativamente, entre 600 ppm (escenario SRES A1B) y 1250 ppm (escenario A2), lo cual ha despertado el interés de la comunidad científica respecto al impacto que tendría en la fisiología, en el rendimiento y en la calidad de los cultivos (IPCC, 2015). Todos estos factores podrían afectar significativamente el intercambio gaseoso y la tasa de asimilación neta de CO₂, particularmente en plantas del tipo C3. En términos fisiológicos, la mayoría de las proyecciones sugieren un aumento de la tasa fotosintética neta (An), y una baja tanto en la conductancia estomática (gs) como en la tasa de transpiración (E) a mayor concentración de CO₂ en la atmósfera (Ainsworth y McGrath, 2010; Kaminski *et al.*, 2014). Sin embargo, bajo este nuevo escenario resulta interesante conocer si la tasa fotosintética neta aumentaría a niveles más alto de CO₂ a pesar de que la planta enfrente periodos de déficit hídrico durante su crecimiento y desarrollo de los componentes del rendimiento. En el presente capítulo se discutirán algunos estudios respecto al intercambio gaseoso en papas bajo estrés hídrico y bajo elevada concentración de CO₂ en la atmósfera.

EL INTERCAMBIO GASEOSO DISMINUYE DURANTE EL DÉFICIT HÍDRICO EN PAPAS

El déficit hídrico en plantas es primeramente detectado a nivel radicular. Rápidamente la planta envía una señal que gatilla el cierre de estomas, inhibiendo la fotosíntesis y el intercambio gaseoso. La fotosíntesis es el resultado de varios componentes, incluyendo pigmentos fotosintéticos, fotosistemas (PSI y PSII), sistema de transporte de electrones e intercambio gaseoso. Todos estos son significativamente afectados por estrés hídrico en la mayoría de las especies cultivadas. En la papa cultivada, varios estudios han demostrado que el intercambio gaseoso se ve afectado significativamente por el déficit hídrico. Particularmente, se han reportado bajas significativas en la tasa de fotosíntesis neta (Schapendonk *et al.*, 1989; Fleisher *et al.*, 2008; Xu *et al.*, 2011). El estudio de Schapendonk *et al.*, (1989) en cinco cultivares de papas, mostró que en las etapas iniciales del estrés hídrico la asimilación de CO₂ está limitada por la conductancia estomática (gs), pero luego de tres días la asimilación de CO₂ estaría limitada por el mesófilo. Otro estudio también en papas, que evaluó el efecto de estrés hídrico desde inicio de tuberización durante dos semanas, mostró que el intercambio gaseoso disminuyó en la medida que aumentó el estrés hídrico, y ratificó que la conductancia estomática es la primera afectada por este tipo de estrés (Liu *et al.*, 2005). Un posterior estudio en papas realizado en campo, que evaluó el riego parcial de raíces PDR (por su sigla en inglés, Partial Drying Root-Zone), también mostró que la conductancia estomática es rápidamente afectada por el estrés hídrico, disminuyendo antes que la tasa fotosintética (A). Además, se observó un aumento en la eficiencia del uso del agua intrínseca (A/g_s) (Liu *et al.*, 2006). Por otra parte, otros estudios de déficit hídrico prolongado en papa han mostrado que junto con reducir el índice de área foliar también disminuyen la asimilación neta y la intercepción de la radiación fotosintéticamente activa PAR (por su sigla en inglés, Photosynthetically Active Radiation) (Deblonde y Ledent, 2001; Fleisher *et al.*, 2008).

Un estudio reciente en INIA Chile, cuyo objetivo fue evaluar la respuesta de diferentes cultivares de papas (*Solanum tuberosum* L.) a estrés hídrico durante dos semanas; mostró que todos los cultivares evaluados disminuyeron su intercambio gaseoso y asimilación neta frente a estrés hídrico (**Figura 5.1**). Similar a los estudios antes citado, la disminución de la conductancia estomática fue la primera respuesta observada en todos los cultivares frente al déficit hídrico; mientras Yagana fue uno de los cultivares más sensible a la falta de agua, contrariamente Desireé y Karú fueron relativamente menos afectados.

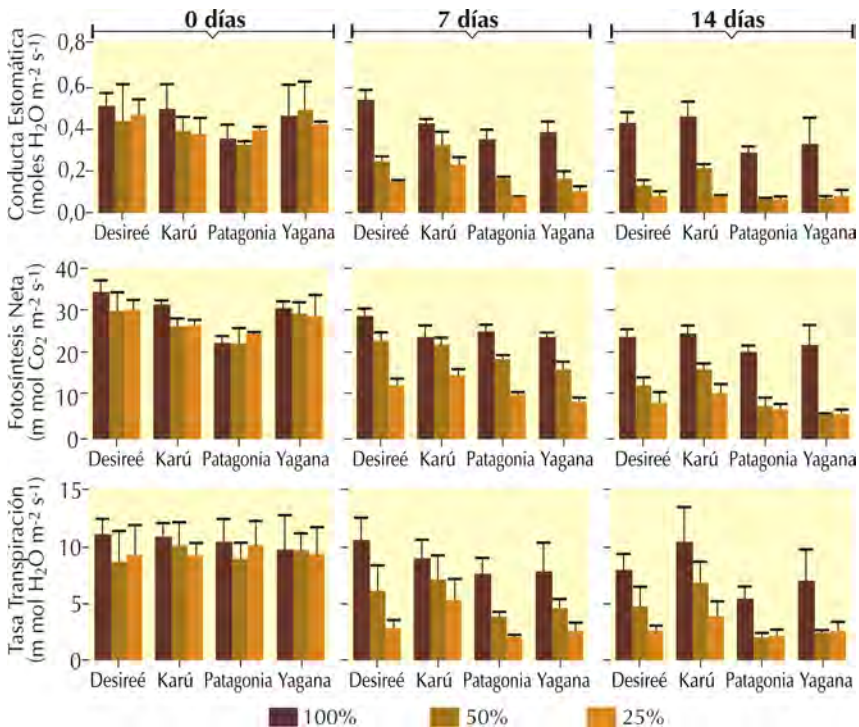


Figura 5.1. Intercambio gaseoso en cuatro cultivares de papa a los 0, 7 y 14 días bajo diferentes tratamientos de déficit hídrico controlado en INIA Chile. Este experimento fue realizado en condiciones controladas en invernadero ($24\pm 3^{\circ}\text{C}$) durante dos temporadas y los tratamientos de estrés hídrico fueron 100% de riego (control), 50% de riego y 25% de riego.

EL INTERCAMBIO GASEOSO Y AUMENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE CO₂ EN LA ATMÓSFERA

En la actualidad la concentración del dióxido carbono (CO₂) en la atmósfera es cercano a las 390 ppm. Sin embargo, el IPCC indican que las concentraciones CO₂ en la atmósfera, aumentarían hasta niveles que fluctuarían entre 540 y 970 ppm para el año 2100 (IPCC, 2015). Se sugiere que a mayores concentraciones de CO₂ en el ambiente, se incrementaría la tasa de asimilación de CO₂ en plantas del tipo C3, como lo es la papa cultivada. Algunos estudios en papa por ejemplo muestran que la asimilación de CO₂ aumentaría entre 10% y 40% a 720 ppm CO₂, con un consecuente aumento en el número de tubérculos por planta y en el tamaño de los tubérculos. Proyectando un aumento en el rendimiento del 10% por cada 100 ppm de incremento en el CO₂ (Katny *et al.*, 2005; Högy y Fangmeier, 2009). Otro estudio mostró que este incremento en la producción de tubérculos se explica porque a mayor nivel de CO₂ ambiental, aumentaría la movilización de CO₂ hacia los tubérculos, porque se produciría mayor tamaño de los tubérculos debido a mayor proliferación celular (Chen y Setter, 2012). Es importante mencionar, que la mayoría de los estudios que han evaluado la respuesta del intercambio gaseoso a mayores niveles de CO₂ han sido realizados en regiones de clima templado y no se ha evaluado en conjunto con incrementos en la temperatura ni con déficit hídrico (Miglietta *et al.*, 1998; Sicher y Bunce, 1999; Donnelly *et al.*, 2001; Conn y Cochran, 2006; Fleisher *et al.*, 2013).

Fleisher *et al.*, (2008), realizaron dos experimentos en papa bajo cámaras de crecimiento, para estudiar la interacción de dos niveles de CO₂ atmosférico (370 y 740 ppm.) en plantas bien regadas y bajo estrés hídrico. Las plantas expuestas a 740 ppm de CO₂ y sin restricciones hídricas mostraron mayor tasa de fotosíntesis, sugiriendo que un importante efecto de una atmósfera enriquecida en CO₂, sería el incremento en el uso eficiente del agua WUE, en terminos de la producción de gramos de materia seca por litro de agua, (para definiciones de WUE ver capítulo 7 y tabla 7.1). Un estudio reciente

de Kaminski *et al.*, (2014) evaluó el intercambio de gaseoso, el uso eficiente del agua y el rendimiento en cultivares de papa frente a cambios en la concentración de CO_2 , en la temperatura y en la humedad relativa. Este estudio mostró que la eficiencia del uso del agua, tanto fotosintética (An/E) como intrínseca (An/g_s), incrementó con la temperatura debido a un aumento en An y a una disminución tanto en la conductancia estomática (g_s) como en la transpiración de la hoja (E). También, se observó mayor producción de tubérculos y eficiencia en el uso del agua a mayores concentraciones de CO_2 (380, 700 y 1000 ppm.). Por otra parte, a tres niveles de temperatura, (14, 21 y 28°C), tanto An/E como An/g_s incrementaron significativamente a mayor concentración de CO_2 , pero a 28°C bajó la fotosíntesis (An) a mayor concentración de CO_2 . Además, se observó que la relación Ci/Ca fue significativamente más alta en plantas que crecieron a elevada concentración de CO_2 . Este estudio concluyó que mayor concentración de CO_2 en el ambiente mejoraría el uso eficiente del agua y el rendimiento a 14 y 21°C, pero a mayor temperatura – condiciones del cambio climático- podría disminuir la respuesta de la fotosíntesis a mayores concentraciones de CO_2 e incluso disminuir el uso eficiente del agua (Kaminski *et al.*, 2014).

En la **Figura 5.2**, se muestran las curvas de respuesta A/PAR y A/Ci en cuatro cultivares de papa (Desireé, Karú, Yagana y Patagonia) cultivados sin restricciones hídricas. Todos los cultivares incrementaron la tasa de asimilación de CO_2 a mayor nivel de intensidad luminosa PAR. Sin embargo, se observaron algunas diferencias entre ellos; mientras los cultivares Desireé y Yagana se estabilizaron a 1000 PAR, Karú y Patagonia continuaron incrementando la asimilación de CO_2 a mayores niveles de PAR. En relación a la curva de respuesta de estos cuatro cultivares de papa creciendo sin restricciones hídricas para la asimilación neta de carbono (A) vs la concentración de CO_2 intercelular (Ci), todos los cultivares incrementaron significativamente la tasa de asimilación neta de CO_2 a mayor concentración de Ci (a 600 ppm y 800ppm), lo cual ratifica que la tasa de fotosíntesis neta aumentaría en un ambiente con mayor concentración de CO_2 a temperatura constante y sin restricciones hídricas.

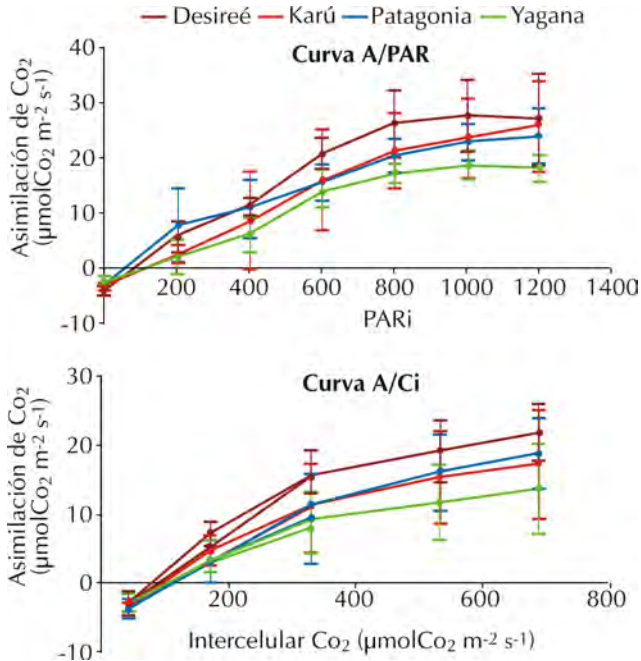


Figura 5.2. Curvas de respuesta de cuatro cultivares de papa (Desireé, Karú, Yagana y Patagonia) creciendo sin restricciones hídricas bajo invernadero en INIA La Platina, para la asimilación neta de carbono (A) vs la radiación fotosintéticamente activa (PARi) y para la asimilación neta de carbono (A) vs la concentración intercelular de CO_2 (A/Ci).

UTILIDAD DE LAS CURVAS A/Ci Y A/PAR

El objetivo de las curvas de respuesta A/Ci y A/PAR, previo al ensayo principal, es el conocimiento de la respuesta de la planta frente a la asimilación de carbono y la radiación fotosintéticamente activa. Principalmente, para conocer los valores óptimos para cada especie y/o variedad a analizar. Es importante mencionar también que las curvas de A/Ci permiten evaluar la actividad de la enzima RuBis-

Co, la que puede verse afectada por el estrés hídrico (Flexas *et al.*, 2002). Mediante la curva A/Ci se puede obtener, según los cálculos de Von Caemmerer y Farquhar (1981) valores de; Vcmax (Velocidad de carboxilación de la RuBisCo), Jmax (tasa máxima de transporte electrónico para la regeneración de RuBP) y Amax (Tasa fotosintética máxima a saturación de CO₂), que permitirán determinar los efectos del estrés hídrico sobre la capacidad fotosintética. Según experiencias prácticas, aunque en la gran mayoría de los casos se asume que el valor de CO₂ para realizar las mediciones es el valor ambiental (400 ppm de CO₂). Es bueno determinar el comportamiento previo de la planta frente a diferentes concentraciones de CO₂. Frente a una curva de A/Ci, se sigue el mismo principio que en las curvas de luz (Tambussi y Graciano, 2010). El CO₂, es ampliamente reconocido que produce cierre estomático a altas concentraciones (Drake *et al.*, 1997). Por lo tanto, si se comienza midiendo desde 2000 a 0 ppm de CO₂, se producirá cierre estomático influyendo en el resto de las mediciones. Idealmente se debe comenzar midiendo en 400 ppm e ir disminuyendo el CO₂. Luego, volver a las condiciones iniciales y esperar hasta la que la hoja entregue valores de fotosíntesis y conductancia estomática similares al inicio de la curva, para posteriormente incrementar el CO₂. Con esto, se puede asegurar que las mediciones a altas concentraciones de CO₂, no influyan en el resto de las mediciones.

Los equipos IRGA, permiten el control de variables como la concentración de CO₂, la radiación fotosintéticamente activa PAR entregada a la hoja y permiten realizar este tipo de curvas. En la **Tabla 5.1** se entrega un resumen de tres sistemas de medición de intercambio gaseoso,

En conclusión, el cambio climático afectará significativamente el intercambio gaseoso y la asimilación de CO₂ por los factores discutidos en este capítulo. En conjunto con pérdidas por déficit hídrico, se espera que el aumento de la concentración de CO₂ en la atmósfera resulte positiva en términos del rendimiento.

Tabla 5.1. Comparación de tres sistemas de medición de intercambio gaseoso según características publicitadas por proveedores.

Características	LI 6400 XT LI-COR Biosciences	CIRAS 3 PPSystem	GFS 3000 Heinz Walz Company
Portabilidad (Peso)	No específica	4,3 Kg (Batería incluida)	12,1 Kg
Baterías y duración	1-3 horas, dependiendo de la aplicación	8 horas	1 batería 3-4,5 horas 2 baterías 6-9 horas
Rango de medición de CO ₂	0-3.000 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	0-10.000 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ (con control hasta 2000 $\mu\text{mol mol}^{-1}$)	0-3.000 ppm
Rango de medición de H ₂ O	0-75 mmol mol ⁻¹	0-75 mb	0-75.000 ppm
Analizador de gases infrarrojo	Absoluto, abierto, no dispersivo	4 analizadores independientes, no dispersivo para CO ₂ y H ₂ O	4-canales CO ₂ /H ₂ O, Absoluto, no dispersivo. Cubetas separadas de CO ₂ y H ₂ O
Control de temperatura	Cámara de hoja puede ser calentada o enfriada $\pm 6^{\circ}\text{C}$ desde el ambiente	Control automático 0-45°C	Constante en la cubeta, constante en la hoja o variable
Rango de Luz	0 to 2.000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a 30 °C	Opcional. Rango de control de luz: 0-2.500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	0-2.000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Cabezales de medida	Intercambiables	Intercambiables	Intercambiables

Continuación Tabla 5.1. Comparación de tres sistemas de medición de intercambio gaseoso según características publicitadas por proveedores.

Características	LI 6400 XT LI-COR Biosciences	CIRAS 3 PPSystem	GFS 3000 Heinz Walz Company
Monitor	LCD	Color LCD Cubeta con pantalla LCD	Panel integrado, pantalla Touch Screen
Calibración	Manual	Automática	Manual
Fluorescencia de Clorofilas	Opcional, 6400-40 Leaf Chamber Fluorometer for measuring Fluorescence	Opcional, CFM-3 Chlorophyll Fluorescence Module	Opcional, PAM-Fluorometer 3055 Fc & 3050 F
Software	Windows	XML	Windows
Otros accesorios	Cámara para Arabidopsis, briofitos, suelo, entre otros	Respiración de suelo y cámara de asimilación de canopia	Cámara para coníferas, líquenes, Arabidopsis, entre otros
Otras características	Analizador en la cámara de hoja	Sensor de temperatura infrarrojo en la hoja	Se puede combinar con otros instrumentos Walz

LITERATURA CONSULTADA

- Ainsworth, E. A., and McGrath, J. M. (2010).** Direct effects of rising atmospheric carbon dioxide and ozone on crop yields. In *Climate Change and Food Security* (pp. 109-130). Springer Netherlands.
- Chen, C. T., and Setter, T. L. (2012).** Response of potato dry matter assimilation and partitioning to elevated CO₂ at various stages of tuber initiation and growth. *Environmental and Experimental Botany*, 80, 27-34.
- Conn, J. S., and Cochran, V. L. (2006).** Response of potato (*Solanum tuberosum* L.) to elevated atmospheric CO₂ in the North American Subarctic. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 112(1), 49-57.
- Deblonde, P. M. K., and Ledent, J. F. (2001).** Effects of moderate drought conditions on green leaf number, stem height, leaf length and tuber yield of potato cultivars. *European Journal of Agronomy*, 14(1), 31-41.
- Donnelly, A., Craigan, J., Black, C. R., Colls, J. J., and Landon, G. (2001).** Does elevated CO₂ ameliorate the impact of O₃ on chlorophyll content and photosynthesis in potato (*Solanum tuberosum*)?. *Physiologia Plantarum*, 111(4), 501-511.
- Drake, B. G., González-Meler, M. A., and Long, S. P. (1997).** More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO₂? *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 48(1), 609-639.
- Fleisher, D. H., Timlin, D. J., and Reddy, V. R. (2008).** Elevated carbon dioxide and water stress effects on potato canopy gas exchange, water use, and productivity. *Agricultural and Forest Meteorology*, 148(6), 1109-1122.

- Fleisher, D. H., Barnaby, J., Sicher, R., Resop, J. P., Timlin, D. J., and Reddy, V. R. (2013).** Effects of elevated CO₂ and cyclic drought on potato under varying radiation regimes. *Agricultural and Forest Meteorology*, 171, 270-280.
- Flexas, J., Medrano, H., and Hemantaranjan, A. (2002).** Photosynthetic responses of C3 plants to drought. *Advances in Plant Physiology*, 4, 1-56.
- Högy, P., and Fangmeier, A. (2009).** Atmospheric CO₂ enrichment affects potatoes: 1. aboveground biomass production and tuber yield. *European Journal of Agronomy*, 30(2), 78-84.
- IPCC (2015).** Carbon Dioxide: Projected emissions and concentrations. http://www.ipcc-data.org/observ/ddc_co2.html, (Último acceso noviembre 2015).
- Kaminski, K. P., Kørup, K., Nielsen, K. L., Liu, F., Topbjerg, H. B., Kirk, H. G., and Andersen, M. N. (2014).** Gas-exchange, water use efficiency and yield responses of elite potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars to changes in atmospheric carbon dioxide concentration, temperature and relative humidity. *Agricultural and Forest Meteorology*, 187, 36-45.
- Katny, M. A. C., Hoffmann-Thoma, G., Schrier, A. A., Fangmeier, A., Jäger, H. J., and van Bel, A. J. (2005).** Increase of photosynthesis and starch in potato under elevated CO₂ is dependent on leaf age. *Journal of Plant Physiology*, 162(4), 429-438.
- Liu, F., Jensen, C. R., Shahzari, A., Andersen, M. N., and Jacobsen, S. E. (2005).** ABA regulated stomatal control and photosynthetic water use efficiency of potato (*Solanum tuberosum* L.) during progressive soil drying. *Plant Science*, 168(3), 831-836.

- Liu, F., Shahnazari, A., Andersen, M. N., Jacobsen, S. E., and Jensen, C. R. (2006).** Physiological responses of potato (*Solanum tuberosum* L.) to partial root-zone drying: ABA signalling, leaf gas exchange, and water use efficiency. *Journal of Experimental Botany*, 57(14), 3727-3735.
- Miglietta, F., Magliulo, V., Bindi, M., Cerio, L., Vaccari, F. P., Loduca, V., and Peressotti, A. (1998).** Free air CO₂ enrichment of potato (*Solanum tuberosum* L.): development, growth and yield. *Global Change Biology*, 4(2), 163-172.
- Schapendonk, A. H. C. M., Spitters, C. J. T., and Groot, P. J. (1989).** Effects of water stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence of five potato cultivars. *Potato Research*, 32(1), 17-32.
- Sicher, R. C., and Bunce, J. A. (1999).** Photosynthetic enhancement and conductance to water vapor of field-grown *Solanum tuberosum* (L.) in response to CO₂ enrichment. *Photosynthesis Research*, 62(2), 155-163.
- Tambussi, E. and Graciano, C. (2010).** Técnicas de medición de intercambio de gases en plantas: curvas de respuesta de la fotosíntesis a la luz y al CO₂, Capítulo 8. *In: Técnicas de Medición en Ecofisiología Vegetal*. M. E. Fernández and J. E. Gyenge (Eds). INTA. Argentina, 109–118.
- Von Caemmerer, S. V., and Farquhar, G. D. (1981).** Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta*, 153(4), 376-387.
- Xu, H. L., Qin, F., Xu, Q., Tan, J., and Liu, G. (2011).** Applications of xerophytophysiology in plant production—The potato crop improved by partial root zone drying of early season but not whole season. *Scientia Horticulturae*, 129(4), 528-534.

Páginas WEBS

Heinz Walz GmbH (2012). Portable Gas Exchange Fluorescence System GFS-3000. Handbook of Operation. 7th Edition: 20-Mar-13. 248p. http://www.walz.com/downloads/manuals/gfs-3000/gfs-3000_Manual_8a.pdf (Último acceso Marzo 2015)

Licor Biosciencias (2012). LI-6400/LI-6400XT Instruction Manual, Using the LI-6400/LI-6400XT Version 6, <http://www.licor.com/env/products/photosynthesis/manuals.html> (Último acceso Septiembre 2015)

PP Systems (2011). CIRAS 3 Instruction Manual <http://ppsystems.com/ciras3-portable-photosynthesis-system/> (Último acceso Septiembre 2015).

LA EMISIÓN DE FLUORESCENCIA DE LA CLOROFILA *a*: UNA HERRAMIENTA PARA LA DETECCIÓN DEL EFECTO DEL ESTRÉS HÍDRICO EN EL APARATO FOTOSINTÉTICO DE LA PAPA

*Carolina Salazar
María Teresa Pino
Paulina Villagra*

La fotosíntesis se inicia cuando la luz es absorbida por los pigmentos fotosintéticos (clorofila *a*, *b* y carotenoides) que existen en las hojas de las plantas. Parte de la energía que absorben estos pigmentos es transferida como energía de excitación y se emplea en la producción ATP y NADPH, las cuales son esenciales en la síntesis de carbohidratos en la planta. Sin embargo, durante la fotosíntesis no toda la energía absorbida es utilizada para producir estos compuestos, parte de la energía se disipa como calor, y en menor grado se re-emite como fluorescencia. Esta distribución de la energía en los tres procesos ocurre simultáneamente, de tal forma que el incremento en la eficiencia de uno de ellos, resultará en la disminución de los otros dos. Es por ello, que el estudio de la fluorescencia de la clorofila se considera una herramienta útil para distinguir diferentes efectos en la limitación de la fotosíntesis (Maxwell y Johnson, 2000).

La emisión de fluorescencia de los sistemas fotosintéticos cambia continuamente con el ambiente. Estrés ambiental como temperaturas extremas, sequía, cambios en la intensidad lumínica, salinidad, y otros afectan la función de los sistemas fotosintéticos de manera directa o indirecta, afectando por tanto a la emisión de fluorescencia.

Por ello, los cambios de la emisión de la fluorescencia, son útiles para estudiar los mecanismos de respuesta a este tipo de estrés incluso en forma temprana (González Moreno *et al.*, 2008; Roháček *et al.*, 2008). Sin embargo, su aplicación e interpretación requiere conocer la teoría de fluorescencia de clorofilas, conocer los instrumentos que permiten su medición y la elección correcta del protocolo a seguir.

¿CÓMO Y QUÉ SE MIDE EN LA FLUORESCENCIA DE CLOROFILA?

El análisis de fluorescencia de la clorofila tiene la ventaja de ser una técnica no destructiva, sencilla y de rápida respuesta. Para ello se utiliza un fluorómetro, un equipo capaz de medir la fluorescencia en vegetales y obtener una serie de parámetros que indican los diferentes fenómenos que ocurren a nivel de los fotosistemas en las hojas. Los sistemas más comunes de medición de la fluorescencia de la clorofila son el fluorómetro no modulado y el fluorómetro modulado. El fluorómetro no modulado tiene como referencia los estudios de Kaustky y colaboradores en los años 60's, en donde los cambios en fluorescencia por iluminación de hojas preadaptadas a oscuridad están cualitativamente correlacionados con cambios en la asimilación de CO₂ y en la tasa fotosintética (Maxwell y Johnson, 2000; Gonzalez Moreno *et al.*, 2008).

Cuando la hoja es adaptada a oscuridad, las quinonas (QA) oxidadas al máximo y los centros de reacción del PSII están abiertos, es decir, están en capacidad de realizar reducciones fotoquímicas de QA, luego de ser expuestas a un rayo de 0,1 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ se produce un nivel mínimo de fluorescencia F_0 , un pulso de luz rojo lejano que excita preferiblemente al fotosistema II (PSII) y remueve electrones de QA, se aplica antes de la medición de F_0 ; luego la hoja es expuesta a pulsos cortos de luz actínica de alta densidad de flujo fotónico (cientos de $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) de tal manera que QA llega a su máximo de reducción y máximo nivel de fluorescencia F_m . Los cen-

tros de reacción del fotosistema II (PSII) con la QA reducida están ahora “cerrados”. La diferencia entre F_m y F_o es definida como F_v , y la relación de F_v/F_m puede ser usada para estimar el rendimiento cuántico máximo de reducción de QA es decir de la fotoquímica del PSII. La relación F_v/F_m es un buen indicador de plantas expuestas a diversos estreses bióticos y abióticos cuando están en presencia de luz (Maxwell y Jonson, 2000; Baker, 2008, Brestic y Zivcak, 2013).

El fluorómetro modulado se basa en que una hoja en continua luz actínica tiene un nivel de fluorescencia F' . El cual aumenta a un nivel máximo de fluorescencia cuando la hoja es expuesta a un corto pulso de luz saturante que reduce al máximo la QA.

La diferencia entre F_m' y F' se denomina F_q' (aunque hay varias denominaciones como F_v'). La relación F_q'/F_m' es teóricamente proporcional al rendimiento cuántico de la fotoquímica del PSII y este es equivalente al rendimiento cuántico del flujo lineal de electrones de los centros de reacción del fotosistema II. Por otra parte, y teniendo el cuidado necesario en las mediciones y características de la muestra a medir, se puede establecer una relación lineal entre la eficiencia de operación del PSII y el transporte lineal de electrones que utiliza la relación F_q'/F_m' para estimar la tasa de transporte de electrones no cíclico en el PSII. En ciertas circunstancias F_q'/F_m' es un buen indicador de cambios en el rendimiento cuántico de asimilación de CO_2 por la hoja (ΦCO_2) pero no debe ser usada para estimar tasas absolutas de asimilación de CO_2 (Baker, 2008; Brestic y Zivcak, 2013).

Existen varias compañías que fabrican fluorómetros, entre ellos están Hansatech Instruments (modelos Handy-PEA; M-PEA; FSM2) y Walz Company (modelos Mini-PAM; PAM 2500) (**Figura 6.1**). Actualmente, algunos equipos de medición de intercambio gaseoso poseen, de forma opcional, la posibilidad de añadir un fluorómetro que permite obtener los valores de intercambio gaseoso y fluorescencia de clorofilas, en la misma medición (**Figura 6.2**).

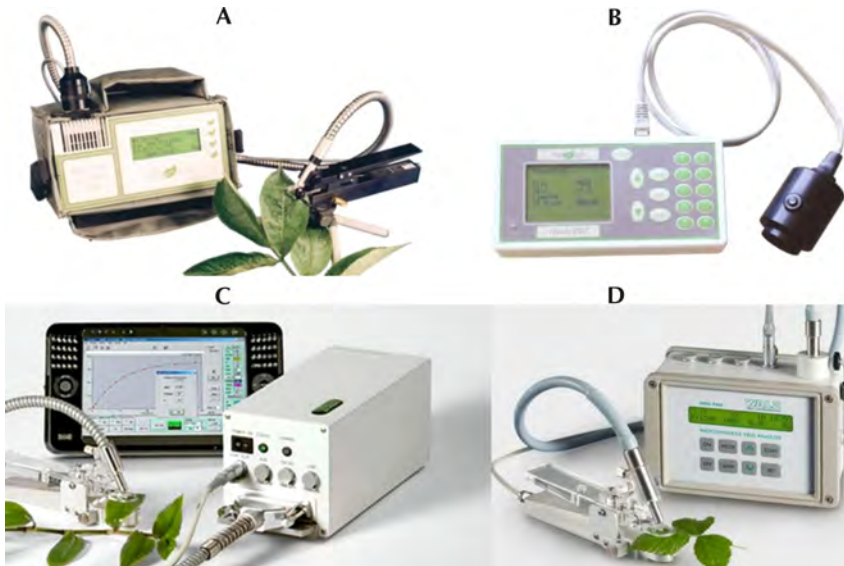


Figura 6.1. Fluorómetros. A, B: FMS2 y Handy-PEA, respectivamente, de Hansatech Instruments. C,D: PAM 2500 y Mini-PAM, de Walz Company. Imágenes obtenidas desde páginas web de (www.hansatech.com y www.walz.com)

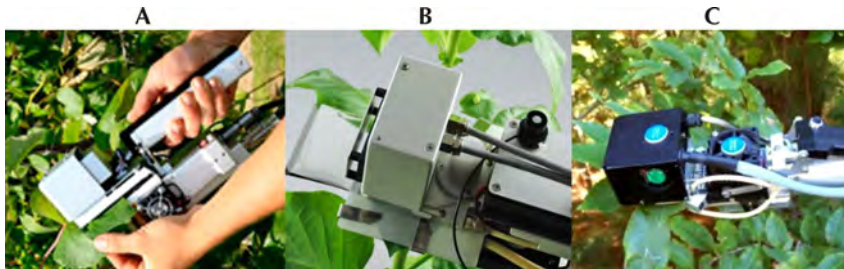


Figura 6.2. Equipos de medición de intercambio gaseoso, con cabezal de fluorescencia (opcional) incorporado. A) Li-6400 XT LI-COR®. B) GFS3000 Walz Company. C) CIRAS 3 PPSYSTEM. Imágenes obtenidas desde páginas web (www.licor.com; www.walz.com y www.ppsystem.com)

MEDICIÓN DE FLUORESCENCIA Y PARÁMETROS DE FLUORESCENCIA

Para la medición de fluorescencia se debe adaptar previamente las hojas a oscuridad durante 10-30 minutos. Para lo cual, los fluorómetros cuentan con pinzas (Figura 6.3) de medición en oscuridad que permiten luego del tiempo de aclimatación medir la fluorescencia en la superficie de la hoja. Posteriormente, la hoja debe ser iluminada con una luz de baja intensidad (que no produzca en la hoja disipación de energía por vías fotoquímicas), para no producir fluorescencia. De esta forma, se puede obtener el valor de fluorescencia basal en condiciones de oscuridad (F_o) (Tambussi y Graciano, 2010). Si, llevamos este valor a lo antes descrito sobre los centros de reacción, F_o representa la fluorescencia cuando la totalidad de los centros de reacción del PSII están abiertos y el aceptor primario está oxidado (Roger y Weiss, 2001). A modo de ejemplo, un fluorómetro Hansatech, utilizando una luz modulada amarilla, provista por una luz LED, con una PPFd de $1,15 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$, proporciona una luz en la superficie de la hoja que logra mantener la fluorescencia a nivel de F_o (Ögren y Baker, 1985).



Figura 6.3. Pinzas de adaptación a oscuridad adaptable a fluorómetros, según modelo. A) Walz Company. B) LI-COR®. C) Walz Company. D) Hansatech Instruments. Imágenes obtenidas desde páginas web (www.licor.com; www.walz.com y www.ppsystem.com)

La hoja en oscuridad, si ha tenido la aclimatación suficiente, tiene los centros de reacción abiertos. Si se aplica un pulso de luz hiper-saturante, la fluorescencia alcanza un máximo, a lo que se denomina Fluorescencia máxima (F_m). Este incremento desde F_o a F_m , se debe a que se produjo una saturación de la vía fotoquímica, producto del pulso de luz hiper-saturante, produciéndose el cierre

de aceptores primarios del PSII, es decir las QA (Quinona A) están reducidas y los centros de reacción cerrados (Tambussi y Graciano, 2010; Roger y Weiss, 2001). Si luego del pulso hiper-saturante, se ilumina la hoja con radiación fotosintéticamente activa (luz actínica continua), se produce una nueva señal de fluorescencia basal, F_s . Si se aplica un nuevo pulso de luz saturante, pero ahora las hojas no están en oscuridad y no tiene los centros de reacción abiertos completamente, se produce una nueva fluorescencia máxima, denominada F_m (Tambussi y Graciano, 2010). Finalmente, si se elimina la luz actínica y se aplica una luz de rojo lejano, se promueve la reoxidación de los aceptores de electrones, y se obtiene un valor de fluorescencia basal denominado F_o (Tambussi y Graciano, 2010; Gonzalez Moreno *et al.*, 2008). De lo antes descrito, podemos inferir que un Fluorómetro PAM como se denominas por las siglas de pulso, amplitud y modulación constan de cuatro fuentes de luz: (i) Luz roja de baja intensidad; (ii) pulsos de luz actínica de alta intensidad; (iii) luz actínica continua y (iv) luz rojo lejano. Además de un detector de fluorescencia para el registro de la fluorescencia emitida (Roháček *et al.*, 2008; Gonzalez Moreno *et al.*, 2008).

Los diferentes parámetros de fluorescencia (**Tabla 6.1**) que proporcionan los fluorímetros nos permiten evaluar si la planta está sufriendo algún tipo de estrés o pérdida de rendimiento antes de que tenga síntomas visibles.

Tabla 6.1. Parámetros básicos de fluorescencia calculados a partir de los datos obtenidos después de aplicar el método de pulso saturante (adaptado de Tambussi y Graciano 2010).

Parámetro	Abreviatura	Fórmula
Fluorescencia variable en oscuridad	Fv	$Fv = Fm - Fo$
Fluorescencia variable a la luz	Fv'	$Fv' = Fm' - Fo'$
Cambio de fluorescencia (provocado por el cierre del PSII)	$\Delta F' (= Fq')$	$Fq'^{\wedge} = Fm'^{\wedge} - Fs$

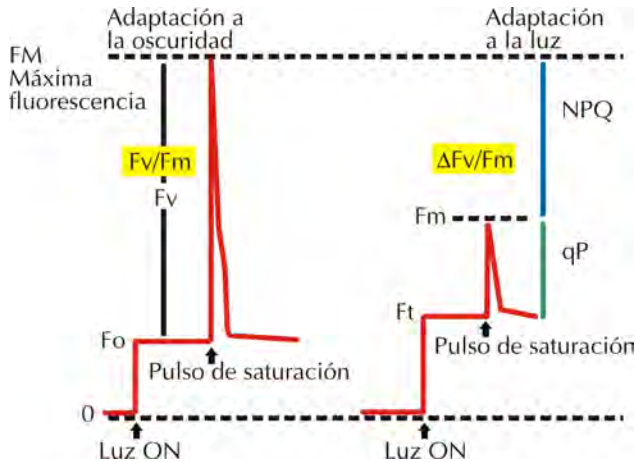


Figura 6.4. Representación esquemática de los parámetros de fluorescencia medidos en hojas previamente oscurecidas y posteriormente iluminadas utilizando la técnica de fluorescencia modulada. (Adaptado de Schreiber (1997) y de Schubert (2015)).

A partir, de los valores y cálculos básicos, se calculan variables funcionales, que hacen referencia al estado del fotosistema de la planta. Estos parámetros se detallan en la **Tabla 6.2**.

Considerando que el F_o , es la fluorescencia basal a oscuridad, donde los centros de reacción están abiertos; cuando ocurre un incremento en F_o , una menor cantidad de centros de reacción están abiertos, a pesar de la ausencia de luz. En este caso, es reconocido que frente a un estrés severo, se produce la activación de mecanismos de quenching no fotoquímico, reflejados en el valor del NPQ (Roháček *et al.*, 2008). Otra relación entre parámetros de fluorescencia es F_m/F_o , que dependen del potencial de agua de la hoja. Mientras bajo condiciones de sequía esta relación disminuye, hasta alcanzar valores de 1, las plantas al ser nuevamente regadas vuelven al estado óptimo con valores cercanos a 3 (Hansatech, 1996). Algunos estudios en otras especies, como la vid sugieren que F_s/F_o serían un buen método de detección temprana de estrés hídrico en la planta

Tabla 6.2. Parámetros de fluorescencia de clorofilas. Fórmulas de cálculo y observaciones sobre su relación con el funcionamiento de proceso fotosintético (Adaptado de Tambussi y Graciano 2010).

Parámetro	Abrev.	Fórmula	Observaciones
Rendimiento Fotoquímico máximo del PSII	Fv/Fm	$= (Fm - Fo)/Fm$	Indica la fracción de energía del total absorbida por los complejos antena que queda disponible luego de la disipación intrínseca a la antena. Se obtiene de hojas aclimatadas a oscuridad. En hojas maduras y sanas, los valores normales son cercanos a 0,8. Su disminución indicaría pérdida de la función fotosintética.
Rendimiento cuántico efectivo del PSII (Eficiencia real)	ϕ_{PSII}	$= \Delta F'/Fm'$	Mide la proporción de luz utilizada en transporte de electrones con respecto a la luz absorbida. Valores entre 0 y 0,8. (Genty <i>et al.</i> , 1989).
Eficiencia fotoquímica efectiva o intrínseca del PSII	Fv'/Fm'	$= (Fm' - Fo')/Fm'$	Señala la eficiencia en la captura de excitación, por los centros abiertos del PSII. Una disminución de este parámetro sugiere que existe un nivel de disipación no térmica superior.
Quenching No Fotoquímico	NPQ	$= \frac{(Fm - Fm^{\wedge})}{Fm'}$	Señala la energía que es disipada como calor (Bilger y Björkman, 1990). Su valor en oscuridad es de 0, para plantas sanas su valor varía entre 0 y 4.
Quenching fotoquímico	qP	$= \frac{(Fm^{\wedge} - Fs)}{(Fm^{\wedge} - Fo^{\wedge})}$	Indica la proporción de centros abiertos del PSII. Es la estimación de la atenuación fotoquímica. Su valor es entre 0 (alta irradiancia) y 1 (oscuridad).
Tasa de transporte electrónico	ETR	$= \phi_{PSII}$ **PPDF x 0,5 a	Estimación de la tasa de transporte electrónico.

**PPFD: Flujo fotónico fotosintético incidente; a: absorbancia (fracción de luz absorbida por la hoja; 0,84); 0,5: fracción de luz absorbida por el PSII. Es importante destacar, que al ser estos parámetros en su mayoría tasas, carecen de unidades.

e incluso podría ser útil como guía de riego (Flexas *et al.*, 2002). Por otra parte, el índice rendimiento cuántico máximo del PSII (F_v/F_m) ha sido definido como un estimador de la integridad del complejo PSII/LHC; este permanecería relativamente inalterado a bajos contenidos relativos de agua (RWC), y sería afectado sólo cuando las plantas experimentan estrés hídrico prolongado (Flagella *et al.*, 1998; Tambussi *et al.*, 2002; Rosenqvist y van Kooten, 2003). Además, el transporte de electrones (ETR), tiene valores relativamente altos a niveles bajos de RWC, y ETR decrece cuando la conductancia estomática cae a valores tan bajos como $0.10-0.15 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Flexas *et al.*, 2002; Lawlor y Cornic, 2002).

FLUORESCENCIA DE CLOROFILAS Y ESTRÉS ABIÓTICOS EN PAPAS

En papas, varios estudios han mostrado una asociación entre la emisión de fluorescencia y la respuesta a estrés hídrico (Wilcox y Ashley, 1982; Prange, 1986). En un estudio en papa (cv Desireé) en el que se evaluó el efecto del estrés osmótico por 24h con polietilenglicol (-0,3MPa), sugirió que los parámetros de fluorescencia de clorofilas proporcionan una mayor comprensión de los efectos del estrés osmótico en la fotosíntesis. Mientras, las plantas bajo estrés rápidamente disminuyeron su potencial hídrico y conductancia estomática, los valores transitorios de fluorescencia de clorofila (F_0 , F_p y F_T) aumentaron, sugiriendo que los aceptores de electrones del PSII se redujeron más rápido que en PSI (Prange, 1986). De igual forma, Havaux (1993) señala que en papas (cv Kenebec) creciendo en condiciones de invernadero, las altas temperaturas y el estrés hídrico causaron una disminución de $\phi P ((F_m - F_s)/F_m)$ respecto al control, con valores de 0,53 en plantas de papas sometidas sólo a estrés hídrico y con valores de 0,49 en plantas de papas sometidas a estrés hídrico y térmico. Finalmente, sugieren la siguiente secuencia de eventos en papas sometidas a estrés por altas temperaturas; inhibición del rompimiento de la molécula de H_2O ($>32^\circ\text{C}$), disminución de la eficiencia y alteración del flujo de electrones después de QA y PSI.

Zrust *et al.* (1994) evaluaron el efecto del estrés hídrico desde la plantación a inicio de la tuberización en dos cultivares de papas (Radka y Desireé). Los resultados mostraron una disminución en la tasa de fotosíntesis neta y en los rendimientos en conjunto con la disminución de la fluorescencia variable en oscuridad (F_v) en hojas e un incremento de fluorescencia basal en condiciones de oscuridad (F_o). Jefferies (1994) al evaluar el efecto del déficit hídrico en el cultivar de papas Maris Piper en condiciones de campo, mostró que un 62% de agua disponible en el suelo disminuyó la conductancia estomatosa, sin efectos significativos sobre el funcionamiento del PSII, ni en el balance entre el quenching fotoquímico (qP) y quenching no-fotoquímico (NPQ).

Por otra parte, Ranalli *et al.* (1997) evaluaron el efecto del estrés hídrico en la temperatura de la canopia y en la emisión de fluorescencia de Clorofila *a*, en el cultivar Desireé y en cinco líneas avanzadas de papas. Mientras en el tratamiento regado se mantuvo a una tensión de 50kPa a 15 cm de profundidad, en el tratamiento de déficit hídrico se cubrió el suelo con polietileno. Los resultados mostraron que mientras F_v/F_m disminuyó con déficit hídrico, la temperatura de la hoja incrementó. Sin embargo, observaron diferencias en la fluorescencia de clorofila y en la temperatura entre genotipos sometidos a déficit hídrico, sugiriendo que la respuesta varía entre genotipos.

Tourneux *et al.* (2003) evaluaron el efecto del déficit hídrico en varios cultivares de papa proveniente de los Andes de Bolivia en función del déficit hídrico relativo de la hoja, potencial hídrico de la hoja ($RWD=100$ -contenido relativo de agua en la hoja), conductancia estomática y fluorescencia de la clorofila. Los resultados similares al estudio anterior muestran que la respuesta varía entre genotipos. Respecto a los parámetros de fluorescencia de clorofila, F_v/F_m sólo

se vió afectado cuando el RWD fue superior al 40%. Otro estudio sugirió que F_v/F_m no se relacionaría directamente con el rendimiento de papas bajo condiciones de sequía (Schafleitner *et al.*, 2007). Estudios recientes en papas indican que algunos parámetros de fluorescencia de clorofilas pueden ser un indicador rápido para estudiar la capacidad fotosintética bajo estrés hídrico (Anithakumari *et al.*, 2012). Básicamente las plantas de papas bajo condiciones óptimas obtuvieron valores F_v/F_m cercanos a 0.8. Sin embargo, bajo sequía este valor disminuyó, indicando pérdida de la función fotosintética. Este daño fue reversible, ya que al re-hidratar las plantas, estas lograron recuperar los valores de F_v/F_m óptimos, sugiriendo que el estrés hídrico en plantas de papa puede afectar el funcionamiento del fotosistema (Anithakumari *et al.*, 2012).

INIA Chile ha evaluado el efecto de tres tratamientos de estrés hídrico sobre ETR, Φ PSII, qP, y F_v'/F_m' en cuatro genotipos de papas durante las últimas tres temporadas. Las plantas fueron sometidas desde tuberización a tres niveles de disponibilidad hídrica a nivel de suelo (100% de riego (control), 50% de riego y 25% de riego) bajo condiciones controladas de invernadero. Los genotipos más susceptibles a déficit hídrico desde el punto de vista del rendimiento por planta fueron los cultivares Patagonia y Yagana, además, todos los cultivares disminuyeron significativamente la mayoría de los parámetros de fluorescencia con estrés hídrico severo (25% de riego); particularmente después de dos semanas de estrés. Los resultados se muestran en la **Figura 6.5**.

En conclusión, es factible usar los parámetros de fluorescencia de clorofilas a en papas, con el fin de realizar un seguimiento frente a estrés abiótico. El principal problema que tiene esta metodología es el elevado precio de equipos fluorómetros y la escasez de personal capacitado para interpretar los datos que proporcionan.

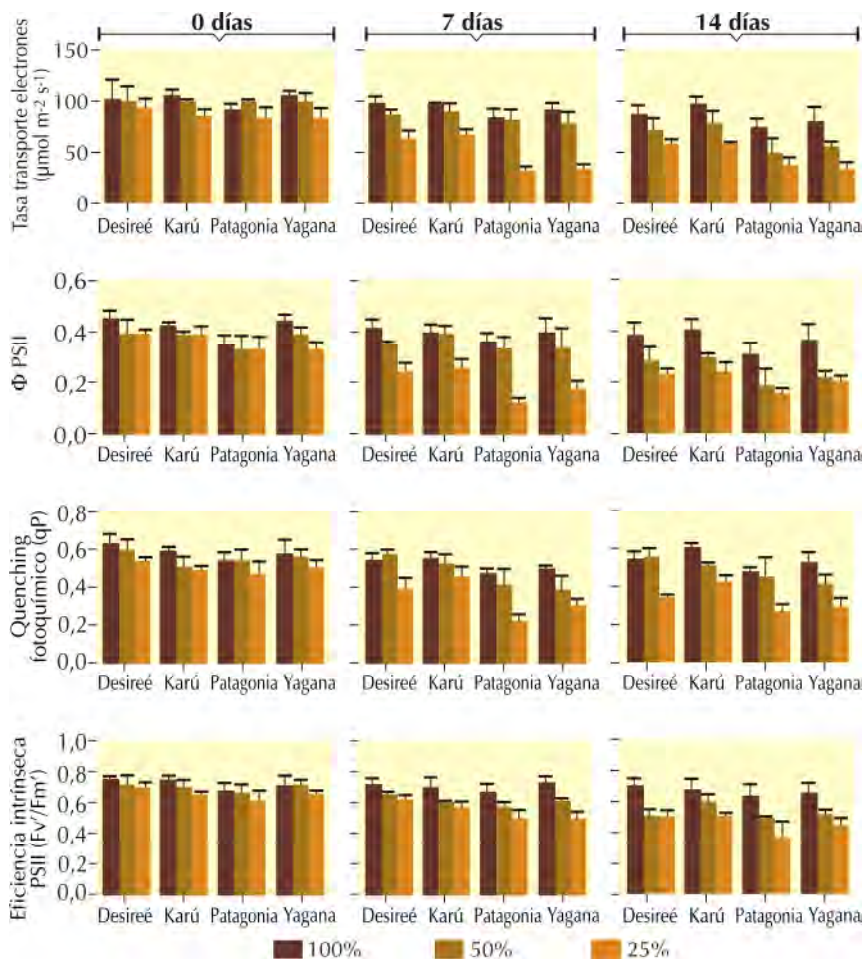


Figura 6.5. Emisión de Fluorescencia de clorofila a en los cvs de papa Desireé, Karú, Patagonia, y Yagana, a los 0, 7 y 14 días bajo diferentes tratamientos de déficit hídrico controlado. Donde, ETR (Tasa electrónica de transporte); Φ PSII (Eficiencia real del fotosistema II); qP (Quenching fotoquímico); F_v'/F_m' (Eficiencia intrínseca del PSII). Este experimento fue realizado en condiciones de invernadero ($24 \pm 3^\circ\text{C}$) en INIA La Platina durante dos temporadas. Los tratamientos de estrés hídrico fueron 100% de riego (control), 50% de riego y 25% de riego, donde el control equivale al 100% de reposición de la evapotranspiración diaria.

LITERATURA CONSULTADA

- Anithakumari, A. M., Nataraja, K. N., Visser, R. G., and van der Linden, C. G. (2012).** Genetic dissection of drought tolerance and recovery potential by quantitative trait locus mapping of a diploid potato population. *Molecular Breeding*, 30(3), 1413-1429.
- Brestic, M., and Zivcak, M. (2013).** PSII fluorescence techniques for measurement of drought and high temperature stress signal in crop plants: protocols and applications. *In: Molecular Stress Physiology of Plants* (pp. 87-131). Springer India.
- Flagella, Z., Campanile, R. G., Stoppelli, M. C., De Caro, A., and Di Fonzo, N. (1998).** Drought tolerance of photosynthetic electron transport under CO₂-enriched and normal air in cereal species. *Physiologia Plantarum*, 104(4), 753-759
- Flexas, J., Escalona, J. M., Evain, S., Gulías, J., Moya, I., Osmond, C. B., and Medrano, H. (2002).** Steady-state chlorophyll fluorescence (Fs) measurements as a tool to follow variations of net CO₂ assimilation and stomatal conductance during water-stress in C3 plants. *Physiologia Plantarum*, 114(2), 231-240.
- Hansatech Instruments Ltd. (1996).** An Introduction to Fluorescence Measurements with the Plant Efficiency Analyser (PEA). Pentney, Norfolk, England: Hansatech.
- Havaux, M. (1993).** Characterization of thermal damage to the photosynthetic electron transport system in potato leaves. *Plant Science*, 94(1), 19-33.
- Jefferies, R. A. (1994).** Drought and chlorophyll fluorescence in field-grown potato (*Solanum tuberosum*). *Physiologia Plantarum*, 90(1), 93-97. doi: 10.1111/j.1399-3054.1994.tb02197.x
- Lawlor, D. W., and Cornic, G. (2002).** Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment*, 25(2), 275-294. doi:10.1046/j.0016-8025.2001.00814.x

- Maxwell, K., and Johnson, G. N. (2000).** Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(345), 659-668.
- Gonzalez Moreno, S. G., Vela, H. P., and Alvarez, M. O. S. (2008).** La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista de Educación Bioquímica*, 27(4), 119-129.
- Ögren, E., and Baker, N. R. (1985).** Evaluation of a technique for the measurement of chlorophyll fluorescence from leaves exposed to continuous white light. *Plant, Cell and Environment*, 8(7), 539-547. doi:10.1111/j.1365-3040.1985.tb01691.x
- Prange, R. K. (1986).** Chlorophyll fluorescence in vivo as an indicator of water stress in potato leaves. *American Journal of Potato Research*, 63(6), 325-333.
- Ranalli, P., Candilo, M. D., and Bagatta, M. (1997).** Drought tolerance screening for potato improvement. *Plant Breeding*, 116(3), 290-292. doi:10.1111/j.14390523.1997.tb00999.x
- Roger, M. J. R., and Weiss, O. (2001).** Fluorescence techniques. In: Handbook of Plant Ecophysiology Techniques SE - 10. Reigosa Roger, M. (Ed). *Springer Netherlands*, 155–171.
- Roháček, K., Soukupová, J., and Barták, M. (2008).** Chlorophyll fluorescence: a wonderful tool to study plant physiology and plant stress. Plant Cell Compartments-Selected Topics. *Research Signpost, India*, 661(2), 41–104.
- Rosenqvist, E., and van Kooten, O. (2003).** Chlorophyll fluorescence: a general description and nomenclature. In: Practical applications of chlorophyll fluorescence in plant biology, DeEll JR, and Tioonen. PMA., (Eds). *Kluwer Academic Publishers, Boston*, 31–77.

- Schafleitner, R., Gutierrez, R., Espino, R., Gaudin, A., Pérez, J., Martínez, M., Domínguez, A., Tincopa, L., Alvarado, C., Numberto, G., and Bonierbale, M. (2007).** Field screening for variation of drought tolerance in *Solanum tuberosum* L. by agronomical, physiological and genetic analysis. *Potato Research*, 50(1), 71-85.
- Schreiber, U. (1997).** *Chlorophyll Fluorescence and Photosynthetic Energy Conversion*. Heinz Walz GmbH, Effeltrich. 73 pp.
- Schubert, N. (2015).** FOTOBIOLOGÍA. In <http://slideplayer.es/slide/2737423/> (último acceso diciembre 2015).
- Tambussi, E. A., Casadesus, J., Munné-Bosch, S., and Araus, J. L. (2002).** Photoprotection in water-stressed plants of durum wheat (*Triticum turgidum* var. *durum*): changes in chlorophyll fluorescence, spectral signature and photosynthetic pigments. *Functional Plant Biology*, 29(1), 35-44.
- Tambussi, E., and Graciano, C. (2010).** La fluorescencia modulada de la clorofila: método del pulso saturante. In: *Técnicas de Medición en Ecofisiología Vegetal*, Fernández, M.E. and Gyenge, J.E. (Eds), INTA. Argentina, 119–126.
- Tourneux, C., Devaux, A., Camacho, M., Mamani, P., and Ledent, J. F. (2003).** Effects of water shortage on six potato genotypes in the highlands of Bolivia (I): morphological parameters, growth and yield. *Agronomie*, 23(2), 169-179.
- Wilcox, D. A., and Ashley, R. A. (1982).** The potential use of plant physiological responses to water stress as an indication of varietal sensitivity to drought in four potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties. *American Potato Journal*, 59(11), 533-545.
- Zrust, J., Vacek, K., Hála, J., Janácková, I., Adamec, F., Ambroz, M., Dian, J., and Vacha, M. (1994).** Influence of water stress on photosynthesis and variable chlorophyll fluorescence of potato leaves. *Biologia Plantarum*, 36(2), 209-214.

RELACIÓN SUELO-AGUA-PLANTA Y EVALUACIONES DE ESTRÉS HÍDRICO EN PAPAS

*Cristian Hernández
Paulina Villagra
Alejandro Antúnez*

A nivel mundial, mejorar la tolerancia a sequía y/o eficiencia en el uso del agua en las nuevas variedades papas es un desafío para muchos programas de mejoramiento genético, tanto públicos como privados. La fuerte competencia por el recurso hídrico entre los distintos sectores de la economía, como la agricultura, la minería, el uso urbano e industrias, presionan cada vez más hacia la producción de alimentos con menores volúmenes de agua. La problemática se acentúa al considerar los efectos del cambio climático, donde se estima que, para finales del siglo XXI, las precipitaciones se reducirán en torno al 25% en primavera y 35% en el periodo estival (IPCC, 2013; IPCC, 2015). Por lo tanto, el desafío no sólo está enfocado a producir variedades más eficientes en el uso del agua, sino también en utilizar métodos de monitoreo del estado hídrico de los cultivos que permitan diseñar estrategias de manejo de riego (métodos de riego, tiempos y frecuencias de riego), óptimos por cultivo, e incluso por variedad.

EFICIENCIA DEL USO DEL AGUA

Un concepto que comúnmente se evalúa en la búsqueda de variedades más tolerantes a déficit hídrico, es la eficiencia del uso del agua EUA o WUE (por su sigla en inglés, Water Use Efficiency). Existen varias definiciones según las metas y necesidad de la hipótesis planteada. En términos agronómicos, EUA se refiere a la cantidad

de agua requerida para producir 1 kilogramo de materia seca de producto (rendimiento). Sin embargo, EUA no siempre está bien correlacionado con rendimiento (Tuberosa, 2012). En papas, EUA se ha reportado frecuentemente como el rendimiento de tubérculos obtenido por unidad de agua consumida; ya sea, como agua aplicada en m^3 , o como unidad de agua transpirada (Doorenbos y Pruitt, 1977; Camargo *et al.*, 2015). La papa requiere de 400 a 600 litros de agua para producir 1 kilogramo de materia seca de tubérculos. Varios estudios han evaluado la EUA en papas. Por ejemplo, en el sur de Túnez se reportaron valores entre 44.1 y 63.4 kg /ha/mm, y entre 8 y 14 kg/m^3 (Nagaz *et al.*, 2007). En Irán, se reportaron valores de EUA en papa entre 1.92 y 5.25 kg/m^3 (Rashidi y Gholami, 2008). Mientras, un estudio más reciente en papas, en la zona de Albacete (España), reportó valores de EUA entre 8.6 y 11.6 $kg m^{-3}$ en el 2011 y entre 7.1 y 8.4 $kg m^{-3}$ in 2012, dependiendo de las tasas de riego aplicada y de la temporada (Camargo *et al.*, 2015). EUA también puede ser referida como rendimiento en base a transpiración (Tr) (Eficiencia de Transpiración, TE) o a evapotranspiración (ET), a nivel de hoja o de cultivo y en base a intercambio gaseoso. En la **Tabla 7.1**, se resumen algunas fórmulas que integran estos conceptos.

Otro concepto que discute es el Efectivo Uso del Agua (EUW), el cual está asociado a la máxima captura de humedad del suelo para transpiración, también a la disminución de la transpiración no estomática y a pérdidas mínimas de agua por evaporación del suelo (Blum 2009; Blum 2011), sugiriendo que el mejoramiento genético o selección debería estar orientado a maximizar la captura de humedad del suelo para transpiración, porque la producción de biomasa está ligada a transpiración.

SEGUIMIENTO DEL ESTADO HÍDRICO DEL SUELO-PLANTA, Y EN ENSAYOS DE ESTRÉS HÍDRICO EN PAPAS

En papas se han realizado varios estudios tendientes a evaluar la respuesta de distintos genotipos a déficit hídrico (DH) usando diferente metodología. En términos generales, existen diferentes tipos de ensayos para estudios de respuesta a DH, dependiendo del tamaño del ex-

Tabla 7.1. Formulas asociadas a la estimación de la eficiencia en el uso del agua a nivel de hoja, planta, o cultivo.

	Sigla Inglés	Fórmula	Referencia
Eficiencia en uso del agua del cultivo	WUE (C)	$WUE(C) = \frac{\text{(Biomasa producida Mat. Seca (kg))}}{\text{(Agua aplicada (m}^3\text{))}}$	Condon <i>et al.</i> 2004
Eficiencia de transpiración	TE	$ET = \frac{\text{(Biomasa Producida)}}{\text{(Agua Transpirada)}}$	Solomon and Labuschagne, 2004
Eficiencia intrínseca en el uso del agua	ITE	$ITE (EIUA) = \frac{\text{(A (}\mu\text{mol CO}_2\text{))}}{\text{(gs (mol H}_2\text{O))}}$	Gil <i>et al.</i> 2007
Uso del agua en el cultivo	WU	$WU = \frac{\text{(g,H}_2\text{O)}}{\text{(planta o m}^2\text{)}}$	Solomon and Labuschagne, 2004

perimento, condiciones climáticas e hipótesis de trabajo. Los métodos más usados según Fernández (2010), son: (a) ensayos de campo en sitios con distintos regímenes de precipitaciones y/o balance hídrico en variadas condiciones de a textura o profundidad de suelo; (b) Parcelas experimentales regadas versus no regadas; (c) Exclusión total de lluvia por cubierta permanente versus precipitaciones normales; (d) Exclusión parcial de lluvia por cubiertas que evitan la llegada de una proporción del agua al suelo; (e) Exclusión de lluvia por cubierta corrediza, ya sea manual o automática (rain-out-shelter); (f) Ensayos en invernadero con control ambiental y/o en cámaras de crecimiento con iluminación natural o artificial; (g) Ensayos en medios de cultivo hidropónicos o con soluciones de distinto potencial osmótico.

Una vez determinado el tipo de experimento que se realizará, es necesario definir en qué etapa de desarrollo del cultivo se aplicará (cuándo) los tratamientos de estrés hídrico, qué nivel de estrés hídrico se aplicará (cuánto), cómo se controlará la cantidad de agua a aplicar, cómo se seguirá la disponibilidad de agua en el cultivo y el estado hídrico de la planta durante el ensayo. En relación con el momento para aplicar los tratamientos de déficit hídrico en papas, es importante considerar que la papa cultivada es sensible a la sequía particularmente durante el periodo de tuberización y del llenado de tubérculos (ver capítulo 2). Esta es la razón por lo cual la mayoría de los tratamientos de déficit hídrico en papas, se aplican a partir de tuberización. Restricciones en la disponibilidad hídrica en estas etapas, se expresa en pérdidas significativas en los rendimientos y también en la calidad de los tubérculos (Weisz *et al.*, 1994; Dalla Costa *et al.*, 1997; Mane *et al.*, 2008). Sin embargo, la magnitud de su efecto en los procesos fisiológicos y su consecuente impacto en los componentes del rendimiento depende además de la duración y severidad del estrés hídrico (Jeffery, 1995).

A continuación, se resumen en la **Tabla 7.2** algunos instrumentos de monitoreo, utilizados en el seguimiento del contenido de agua en suelo y en ensayos de respuesta a estrés hídrico en papa.

Tabla 7.2. Algunos Instrumentos de monitoreo y evaluaciones del estado hídrico del suelo y de la planta.

Mediciones	Definición	Instrumentos	$\frac{\text{MPa}^*}{\text{CC}} \frac{\text{PMP}}{\text{PMP}}$
Estado Hídrico de la Planta			
El potencial hídrico foliar o de la hoja (Ψ^h)	Mide el estado hídrico de la planta, se mide en la hoja y es influenciado por su edad, la ubicación dentro de la planta el nivel de exposición a la luz.	Cámara de Presión o bomba de Scholander, mide el agua retenida en la planta como el potencial de presión a la cual se encuentra el agua retenida por la hoja (Turner, 1980).	-1.0 -3.0
El potencial hídrico del xilema o tallo (Ψ^x)	Mide el estado hídrico general de la planta en forma indirecta utilizando hojas que previamente se han tapado para que se equilibre con el resto de la planta.	Cámara de Presión o bomba de Scholander, mide el agua retenida en la planta como el potencial de presión a la cual se encuentra el agua retenida por la hoja (Turner, 1980).	-0.7 -2.5
Contenido relativo de agua (CRA)	Es un indicador útil del estado del balance hídrico de una planta, porque expresa la cantidad absoluta de agua, que la planta requiere para alcanzar la saturación artificial.	Se registra el peso fresco de la hoja al ser retirada de la planta, luego el peso túrgido después de mantenerla por 12 horas en agua, seguido por el peso seco hasta obtener un peso constante (González y González 2001; Chaman, 2007).	
			$\text{CRA} = \frac{(\text{Peso fresco-peso seco})}{(\text{Peso turgente-peso seco})} \times 100$

*Rango de Valores reportados en papas:

CC = cuando el perfil del suelo está al 100% de su capacidad, después del riego y de 48 horas de drenaje, está en capacidad de campo (CC). El agua es retenida a una tensión cercana a 0.01 MPa por las partículas del suelo y es fácil de extraer por la planta.
 PMP = A medida que las plantas agotan el agua y el suelo se seca, la tensión en el suelo aumenta hasta alcanzar el punto de marchitez permanente (PMP). En la mayoría de los cultivos agronómicos, el PMP se presenta cuando la tensión en el suelo es de 0.15MPa, las plantas ya no pueden seguir extrayendo agua del suelo y mueren.

Continuación de la Tabla 7.2. Algunos Instrumentos de monitoreo y evaluaciones del estado hídrico del suelo y de la planta.

Mediciones	Definición	Instrumentos	MPa* CC PMP
Contenido de agua en el Suelo			
El potencial hídrico del suelo (Ψ_{H_2O})	Determina cantidad de agua en el suelo, a partir de la tensión del agua en el suelo.	Tensiómetro, mide el potencial mátrico del suelo en kPa. En un rango de 0 a -0.085MPa, algunos hasta -0.1 MPa. Requieren mantenimiento, sensible a la helada. Reaccionan más rápidamente a los cambios de humedad que los Watermark y son más exactos. Bajo costo (Martín, 2010).	-0.03 -1.5
		Bloques de resistencia eléctrica (Watermark), mide el potencial mátrico del suelo, en un rango de -0.003 a -0.2MPa. Contiene en su interior yeso para compensar los efectos de la salinidad. No requiere mantenimiento. A gran escala tienen menor costo por superficie que los tensiómetros (Martín, 2010; Fernandez, 2010).	
		Psicrómetro, mide el potencial hídrico del suelo, en un rango de 0 a -8MPa. También, mide el potencial osmótico de hojas, tallos y otros. De alto costo (Martinez <i>et al.</i> , 2011).	

Continuación de la Tabla 7.2. Algunos Instrumentos de monitoreo y evaluaciones del estado hídrico del suelo y de la planta.

Mediciones	Definición	Instrumentos	$\frac{MPa^*}{CC}$ PMP
Contenido volumétrico de agua en el suelo	Es la relación entre el volumen de agua y el volumen de suelo que la contiene. Se puede expresar en porcentaje (%), o fracción (θ)	Sondas TDR (Time-domain reflectometry) se basan en la medición de la constante die-eléctrica del suelo. Funcionan bajo el principio de que la presencia de agua en el suelo afecta la velocidad de propagación de una onda electromagnética haciéndola más lenta. Una limitante es que su lectura cubre un bajo volumen de suelo, y puede inducir errores por salinidad (Martínez <i>et al.</i> , 1994; Pastuszka <i>et al.</i> , 2014).	
		Sondas FDR (Frequency-domain reflectometry), estima el porcentaje volumétrico de agua (VWC) en el suelo y salinidad. Una limitante es que su lectura cubre un bajo volumen de suelo. Sensibles a burbujas de aire (Berengena, 2000; Dobryal <i>et al.</i> , 2012).	<10% >30%
		Sonda de neutrones, contiene una fuente radioactiva que envía una cierta cantidad de neutrones rápidos. Mide la proporción de los neutrones rápidos que salen y de los lentos que regresan según la interacción con los iones H+ del agua. De alto costo. Requiere calibración, y licencia para trabajar con radio-actividad (Dobryal <i>et al.</i> , 2012).	

EL CULTIVO DE PAPA RESPONDE DIFERENCIALMENTE A ESTRÉS HÍDRICO, DEPENDIENDO DEL CULTIVAR, MOMENTO E INTENSIDAD DEL ESTRÉS HÍDRICO

La papa es un cultivo que tiene requerimientos de agua relativamente altos. Mientras en España se han estimado requerimientos cercanos a los 6500m³ de agua/ha, en el CIP se ha estimado que un cultivar de papa de 120 a 150 días consume entre 500 y 700 mm de agua, dependiendo de las condiciones climáticas. En Chile y en la zona de la Araucanía se ha estimado requerimientos entre 450 y 550mm de agua (Fabeiro *et al.*, 2001; FAO, 2003; Mendez y Inostroza, 2009).

A continuación, se detalla algunos estudios de estrés hídrico publicados en papas. Martínez y Moreno (1992), evaluaron la respuesta fisiológica de dos cultivares de papa, Yungay y Revolución, (*Solanum tuberosum* L. *subsp. tuberosum* x *Solanum tuberosum* L. *subsp. andígena*) a déficit hídrico en La Molina (Perú). El ensayo se realizó, en un clima semiárido con precipitaciones de 20mm/año (12°05'Lat. S.; 78°57'Long W.; 230 m.s.n.m), la temperatura promedio fluctuó entre 15 y 16°C, y la humedad relativa estuvo entre 80 y 82%. El ensayo se realizó en un suelo franco-arenoso, bajo un sistema de riego por exudación en líneas (Line-source irrigation system). Desde la siembra hasta 60 días post-plantación, la zona de raíces fue mantenida cercana a capacidad de campo (-0.03MPa) y sólo para el tratamiento de déficit hídrico (DH), el riego fue suspendido durante 10 días (-0.7MPa) a partir de plena tuberización. El estado hídrico del suelo se monitoreó mediante psicrometría de termocuplas, utilizando una cámara de muestras modelo C-52, acoplados a un microvoltímetro modelo HR-33T (Wescor Inc. Logan, Utah, USA). Mientras las plantas control, mantuvieron el potencial hídrico de la hoja casi constante, entre -0.5 y -0.6MPa; las plantas bajo DH llegaron a valores de hasta -2.0 MPa en el cv Yungay. Yungay presentó una mejor respuesta a DH, en términos de ajuste estomático, capacidad fotosintética, y acumulación de prolina en las hojas. Este estudio sugirió que la variedad Yungay se recuperó más rápido que Revolución luego de 10 días bajo DH. Consecuentemente, Yungay mostró mayor área foliar, y peso seco de tubérculo bajo estrés, con valores de 84.6 g. peso seco/tubérculo, mientras en Revolución fue significativamente inferior 42.3 g. peso seco/tubérculo.

Otro estudio en el cultivar Desireé, evaluó la respuesta a DH y salinidad en un suelo arcilloso al norte de Negev, Israel (Heuer y Nadler, 1995). El tratamiento control, consistió en dos riegos por semana en función de la evapotranspiración de bandeja clase A (5.0 a 8.3 mm/día) y el coeficiente de cultivo (0,6 a 1 según la cobertura del suelo por la canopia). El tratamiento de DH, consistió en aplicar el 60% de la cantidad de agua aplicada al tratamiento control a través de todo el periodo de crecimiento del cultivo. Mientras, el contenido de agua en el suelo se monitoreó con sondas de neutrones a 100 cm de profundidad, el potencial mátrico del suelo se evaluó con tensiómetros instalados a 25, 45 y 75 cm de profundidad. El contenido de agua del suelo en el tratamiento control, fluctuó entre 24 y 35% (θ), y en el tratamiento con DH alcanzó el 10%. El potencial mátrico del suelo alcanzó los -0.095 MPa., a 25 cm profundidad. Las plantas sometidas a DH, mostraron menor crecimiento en altura, menor tamaño de hojas y menor área foliar. Contrariamente, el rendimiento de tubérculos y el porcentaje de materia seca de hojas y tallos no fueron afectados por el tratamiento de DH aplicado. Sí, el contenido de materia seca de los tubérculos fue significativamente más alto en DH, sugiriendo un mejor uso del agua debido al índice de cosecha. Sin embargo, un valor de potencial mátrico de suelo de -0.095 MPa., en el tratamiento de DH aplicado, no implica que las plantas estuvieron bajo estrés por sequía. En previos estudios y los siguientes, las plantas mostraron pérdidas significativas en los rendimientos cuando el potencial mátrico de suelo, fue inferior a -0.5MPa.

Deblonde y Ledent (2001), evaluaron la respuesta de seis genotipos de papa a distintos tratamientos de disponibilidad hídrica en condiciones de campo en Nodebais (Belgium), durante dos años. Se evaluaron dos cultivares tempranos (Eersteling, sensible y Jaerla, tolerante), dos cultivares de precocidad media (Krostar Eersteling, sensible, Claustar, intermedio, y Bintje, tolerante) y dos cultivares semitardíos (Nicola y Desireé, ambos tolerantes). La plantación se realizó en el mes de abril, y las precipitaciones alcanzaron los 85 mm (1995) y 57 mm (1996). Se evaluaron tres tratamientos: control (lluvia + riego), seco (sólo lluvia) y sequía (el suelo fue protegido con plástico). Los valores del potencial hídrico del suelo, alcanzaron

-0,3MPa (1995) y -0,5 MPa (1996) a 20 y 40 cm de profundidad (no se menciona con que instrumento se monitoreó). Los resultados mostraron que los cultivares tempranos, en general, tuvieron menor crecimiento en altura que los cultivares tardíos. El tratamiento-sequía, redujo significativamente la altura del tallo en comparación con el tratamiento-control, no así con el tratamiento- seco. Además, el tratamiento-sequía redujo significativamente el número de hojas verdes en dos fechas (108 y 124 días después de la siembra), resultados similares se observaron en el tratamiento- seco (124 días después de la siembra). En la primera temporada, se observaron diferencias en el número de tubérculos y en la segunda temporada en el peso seco promedio de tubérculo. En general, concluyeron que el número de hojas verdes, altura de tallos y tamaño de la hoja, respondieron a DH. Sin embargo, sólo la altura de tallo mostró diferencias cuando la planta experimentó el déficit hídrico temprano en la temporada, sugiriendo que relación entre altura de tallo y peso seco de tubérculo (s/r), podría ser un indicador interesante a considerar para discriminar entre cultivares tolerantes y sensibles. El estudio concluye, que es necesario profundizar en el estudio de la precocidad de cultivares y su respuesta a déficit hídrico, sugiriendo que los cultivares de ciclo más corto (precoces) escaparían a periodos de sequía tardíos.

Lahlou *et al.* (2003), sometieron cuatro cultivares de papa (Remarka, Desireé, Nicola y Monalisa) a DH, en campo (1998) y en invernadero (1998 y 1999). En campo, los ensayos se realizaron en Incourt (Belgica) en el mes de mayo; en el tratamiento control se aplicó 100% de riego por aspersión en función de la demanda del cultivo y en el tratamiento de DH se suspendió el riego completamente. En invernadero, los ensayos se realizaron en macetas de 40 cm de diámetro y 30 cm de alto, regulando la temperatura a valores similares a los registrados en el exterior. El tratamiento control, consistió en mantener potencial del suelo sobre -0,3 MPa, y el tratamiento DH fue regado sólo cuando el potencial de agua del suelo fue inferior -0,8 MPa, aplicando un 50% de la cantidad de agua aplicada al tratamiento control. El potencial de agua en el suelo tanto en campo como en invernadero fue monitoreado por tensiómetros a dos profundidades (25cm y 45cm), llegando a valores de -0.9MPa bajo sequía prolongada. El potencial hídrico de la hoja, alcanzó -1.4MPa

en algunos cultivares sometidos a DH en campo y hasta -2.0MPa en invernadero. El DH redujo los rendimientos entre un 11 % y un 44% en condiciones de campo, y entre un 40 % y 53% en invernadero. También disminuyó la materia seca de las hojas en ambas condiciones. Mientras, el número de tubérculos se redujo sólo en los cultivares precoces, el índice de área foliar y la duración del área foliar fueron más afectadas que en los cultivares tardíos.

Liu *et al.*, (2005), evaluaron la respuesta a DH del cv. Folva en condiciones de invernadero durante dos estados de desarrollo, a inicio de tuberización y durante el llenado de tubérculos. En este experimento, las plantas fueron establecidas en macetas (15 cm diámetro y 50 cm de alto) y mantenidas a una temperatura de 20°C día/ 14° noche $\pm 2^{\circ}\text{C}$, humedad relativa de 60%, fotoperiodo de 15h con una PAR de $600 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Para los tratamientos hídricos, las macetas fueron primero regadas y se les permitió drenar libremente hasta alcanzar peso constante (100% capacidad de retención). Después de emergencia, todas las plantas fueron regadas diariamente al 95%. El tratamiento de DH consistió en aplicar el 50% del volumen aplicado al tratamiento control. En ambas etapas, el contenido relativo de agua, el potencial hídrico de la raíz y el potencial hídrico de la hoja fueron significativamente afectados con DH, llegando a valores de $-0,8\text{MPa}$ para la raíz y entre $-0,9$ a $-1,1 \text{MPa}$ para la hoja. La conductancia estomática disminuyó tempranamente, y coincidió con la disminución del potencial hídrico de la raíz y el aumento de la concentración de ácido abscísico (ABA) en la xilema. Mientras, la asimilación de CO_2 disminuyó significativamente, dos días más tarde que la conductancia estomática. La conductancia estomática fue linealmente correlacionada con la concentración de ABA en el xilema mostrando potenciales de $-0,3 \text{MPa}$. La eficiencia intrínseca del uso de agua (asimilación/conductancia estomática), aumentó linealmente con la disminución de la conductancia estomática hasta $0,2 \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Por debajo de este punto, se redujo drásticamente.

Liu *et al.* (2006), evaluaron la respuesta fisiológica del cv Folva a sequía parcial de raíces PRD (por su sigla en inglés, Partial Root-Zone Drying). Se realizaron dos ensayos, uno en macetas en condiciones de invernadero y otro en campo en el sur de Jutland, Dinamarca (Lat.

54° 9' N, long. 9° 13' E) bajo una cubierta corrediza (rain-out-shelter). En invernadero, las plantas fueron regadas diariamente, mojando todo el sistema radicular (control) y la mitad del sistema radicular durante nueve días (PRD). El ensayo se realizó en macetas de 47,5 cm de alto y suelo arenoso. La temperatura del invernadero fue 20°C día/14±2° noche, fotoperiodo de 15h día y PAR de 500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PAR. El contenido de agua en el suelo (θ) fluctuó entre 17.5% a máxima capacidad de retención de la maceta y 4% a punto de marchitez permanente (PMP). Los ensayos de campo se realizaron en 2005, las plantas fueron regadas a través de riego por goteo mojando todo el sistema radicular a capacidad de campo (control) y regando en un 70% cada 5–10 días a un sólo lado de la hilera de plantación (PRD). El contenido de agua en el suelo (θ), fue monitoreado con sondas TDR (TRASE, Soil Moisture Equipment Corp., USA), fluctuó entre 16.1% y 6,3%. Mientras, no se observaron diferencias significativas en el potencial hídrico de la hoja para ambos tratamientos en invernadero (-0.4 a -0.6MPa), sí se observaron diferencias significativas en campo (-0.4 a -1MPa). También, en campo, la producción de tubérculos por planta fue de 231,94 g. por planta en el control y de 257,87 g. por planta en PDR. La eficiencia del uso de agua (WUE) incrementó en 59%; donde WUE, fue calculado en función del incremento en la biomasa de tubérculos y el uso del agua de la planta (esta última, calculada en función de cantidad de agua aplicada y θ) durante todo el experimento. Similares resultados fueron validados más tarde por el mismo grupo de trabajo. El ensayo se realizó en condiciones de campo bajo cubierta corrediza (rain-out-shelter). En el tratamiento control se repuso el 100% de la evaporación del cultivo y en el tratamiento PRD se regó cada 5-10 días a un lado de la hilera de plantación, reponiendo el 43 y 70% según temporada. Shahnazari *et al.* (2007) mostraron también en el cv Folva, que PRD permitió ahorrar el 30% del agua de riego, mantener la producción y mejorar la eficiencia del uso del agua en 61%. Esta metodología, PRD no está validada y no existe consenso al respecto.

Knipp y Honermeier (2006), estudiaron el comportamiento de siete líneas transgénicas (SST/FFT), del cv. Desireé, a través de ensayos en maceta en condiciones de invernadero. El tratamiento de DH consistió en aplicar entre 10 a 25% menos de riego que el tratamiento control. La respuesta a DH se evaluó en función del contenido de

prolina, potencial hídrico de la hoja, contenido relativo de agua. Mientras en el tratamiento control el potencial hídrico foliar alcanzó $-0,45$ MPa, bajo DH alcanzó $-0,53$ MPa. Además, en todas las líneas evaluadas bajo DH se observó un aumento en el contenido prolina a nivel foliar. Este estudio mostró una interesante asociación entre el contenido de prolina en hoja, el potencial hídrico foliar y contenido relativo de agua; sugiriendo que, en papas la prolina cumpliría un rol en la osmo-regulación bajo condiciones de déficit hídrico.

Para ensayos en macetas bajo ambiente controlado, además de determinar cómo se controlará la cantidad y disponibilidad de agua durante los tratamientos de déficit hídrico. Existen otras consideraciones muy relevantes, según Fernández (2010): una decisión substancial es el tipo de sustrato y el volumen del recipiente a utilizar. Respecto al sustrato es necesario asegurar un buen drenaje, en términos de porosidad, y de la textura del suelo. En relación al volumen de la maceta a usar, este dependerá de varios factores, cuanto más grandes sean, a igualdad de duración del experimento, menores serán los problemas desde el punto de vista del desarrollo radicular. Por otra parte, las macetas de menor tamaño, ahorra espacio y son útiles cuando éste es una limitante. Por ejemplo, macetas pequeñas en un invernadero o en cámaras de crecimiento, permiten un mayor número de repeticiones, pero se debe tener en consideración que las macetas pequeñas aceleran la exposición a sequía.

El INIA Chile, durante los últimos años ha evaluado la respuesta a déficit hídrico de diferentes genotipos de papas tanto en campo (Capítulo 8) como en invernadero. Bajo condiciones controladas de invernadero, se evalúan los genotipos más contrastantes en su respuesta a sequía, e identificados en campo durante la temporada anterior. En estos experimentos controlados, se han remplazado las tradicionales macetas con tubos PVC de 50 cm de alto y 250 mm de diámetro, considerando que en papas el 87 y 96% de las raíces se concentra en los primeros 30 cm de profundidad de suelo, y a fin de asegurar el crecimiento adecuado de los tubérculos y la caracterización radicular. Básicamente, se evaluó el efecto del déficit hídrico controlado sobre la respuesta fisiológica y los componentes de rendimiento en cuatro cultivares de papas. Los tratamientos

fueron 100% de riego (control), 50% de riego y 25% de riego durante dos temporadas, donde el tratamiento control correspondió al 100% de reposición de la evapotranspiración diaria en función del método gravimétrico. En la **Figura 7.1**, básicamente se muestra el seguimiento del estado hídrico del suelo y de la planta a través del contenido volumétrico de agua en el sustrato (θ) según registros

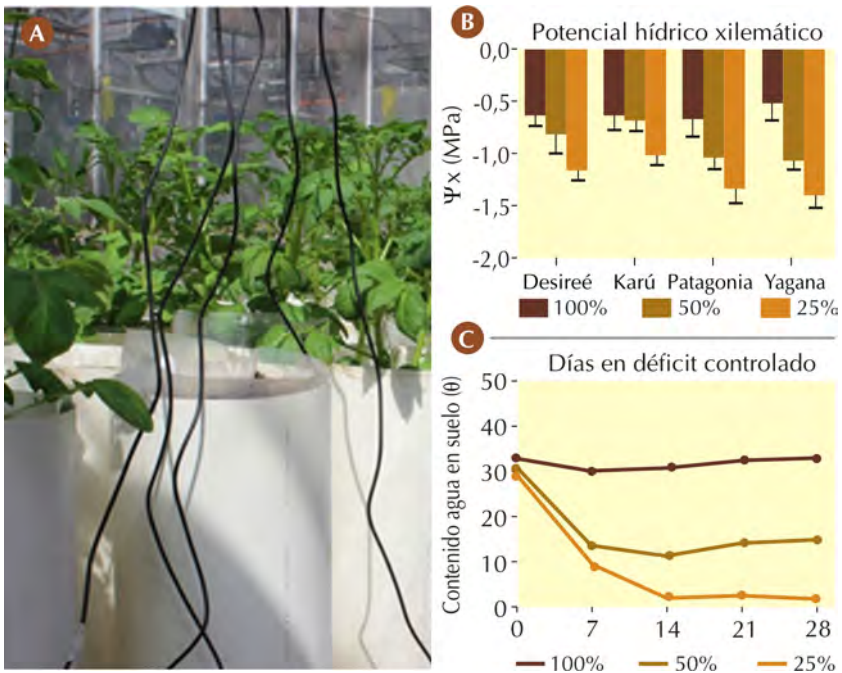


Figura 7.1. Seguimiento del estado hídrico del suelo y de la planta en los cvs Desireé, Karú, Patagonia y Yagana sometidos a déficit hídrico controlado durante 28 días a partir de tuberización. Los tratamientos fueron realizados en invernadero ($24\pm 3^{\circ}\text{C}$) en INIA-Chile; 100% de riego (control), 50% de riego y 25% de riego durante dos temporadas, donde el tratamiento control correspondió al 100% de reposición de la evapotranspiración diaria: **(A)** Plantas de papas creciendo en tubos de PVC (250 mm x 500 mm). **(B)** Potencial hídrico de la hoja a medio día según cámara de presión Scholander a los 28 días. **(C)** Evolución del contenido volumétrico promedio de agua en el sustrato (θ) según registro de sondas de FDR (EC-5) durante los 28 días.

periódicos de sondas de FDR (EC-5) conectadas a un Data Logger Em50 Digital (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA) y a través del potencial hídrico de la hoja a medio día con la cámara de presión Scholander (PMS instrument, Corvallis, OR.).

El tratamiento de DHC (25% de riego), mostró una baja significativa en el contenido de agua del suelo (θ), con valores inferiores al 10%. También, se observó una baja significativa en potencial hídrico de la hoja, con valores inferiores a -1.1 MPa. Los cuales mostraron alta asociación (ver **Tabla 7.3**) con las bajas en los rendimientos mostrado en la Figura 2.2 del capítulo 2. El rendimiento disminuyó entre un 10% y 60%, en los cvs Desireé, Karu, Patagonia y Yagana luego de ser sometidos a DHC durante 28 días, siendo Karu el menos afectado y Yagana el más afectado.

Tabla 7.3. Matriz de coeficientes de correlación entre los parámetros evaluados durante 28 días bajo DHC, para cuatro cvs de papa (Desireé, Karú, Patagonia y Yagana). Los tratamientos de DHC fueron 100% de riego (control), 50% de riego y 25% de riego durante dos temporadas, el control correspondió al 100% de reposición de la evapotranspiración diaria. El ensayo se realizó en macetas bajo invernadero ($24\pm 3^{\circ}\text{C}$) en INIA-Chile.

	(θ)	Potencial hídrico-hoja	Rendimiento-planta	Biomasa-Canopia
(θ)	1,00*			
Potencial hídrico-hoja	0,87*	1,00*		
Rendimiento-planta	0,77*	0,93*	1,00	
Biomasa-Canopia	0,59*	0,40	0,24	1,00

(θ) = contenido volumétrico promedio de agua en el sustrato. * $p < 0.05$

En conclusión, el estudio de a déficit hídrico en papa es aún incipiente y esta limitado a pocos cultivares. En conjunto con determinar la respuesta a estrés hídrico en diferentes cultivares y zonas geográficas es necesario profundizar en tiempos de riego y su respuesta tanto en rendimiento como en calidad.

LITERATURA CONSULTADA

- Berengena, J., Gavilán, P., and Puech, I. (2000).** Validation of a FDR [Frequency Domain Reflectometry] equipment for estimating the water extractions by the crops]. In *Congresos y Jornadas-Junta de Andalucía (España)*. JA, CAP.
- Blum, A. (2009).** Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crops Research*, 112(2), 119-123.
- Blum, A. (2011).** Plant water relations, plant stress and plant production (pp. 11-52). Springer New York.
- Camargo, D. C., Montoya, F., Ortega, J. F., and Córcoles, J. I. (2015).** Potato yield and water use efficiency responses to irrigation in semiarid conditions. *Agronomy Journal*, 107(6), 2120-2131.
- Chaman, M. (2007).** Variaciones en el contenido relativo de agua y la concentración de prolina en *Capsicum annum* L. inducido por NaCl. *Arnaldoa*, 14 (2), 251- 258.
- Condon, A. G., Richards, R. A., Rebetzke, G. J., and Farquhar, G. D. (2004).** Breeding for high water-use efficiency. *Journal of Experimental Botany*, 55(407), 2447-2460.
- Dalla Costa, L., Delle Vedove, G., Gianquinto, G., Giovanardi, R., and Peressotti, A. (1997).** Yield, water use efficiency and nitrogen uptake in potato: influence of drought stress. *Potato Research*, 40(1), 19-34.

- Deblonde, P. M. K., and Ledent, J. F. (2001).** Effects of moderate drought conditions on green leaf number, stem height, leaf length and tuber yield of potato cultivars. *European Journal of Agronomy*, 14(1), 31-41.
- Dobriyal, P., Qureshi, A., Badola, R., and Hussain, S. A. (2012).** A review of the methods available for estimating soil moisture and its implications for water resource management. *Journal of Hydrology*, 458, 110-117.
- Doorenbos, J., and Pruitt, W.O. (1977).** Crop water requirements irrigation and drainage, p: 24. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Fabeiro, C., de Santa Olalla, F. M., and de Juan, J. A. (2001).** Yield and size of deficit irrigated potatoes. *Agricultural Water Management*, 48(3), 255-266.
- FAO (2003a).** Agricultura 21. Enfoques. Revista Gestión Moderna del Riego. Departamento de Agricultura. FAO, Roma. 1- 2.
- FAO (2003b).** Descubrir el potencial del agua para la agricultura. <http://www.fao.org/docrep/006/y4525s/y4525s00.HTM> (Último acceso septiembre 2015).
- Fernández, R.J. (2010).** Control versus realismo en estudios ecofisiológicos: opciones de diseño y procedimientos en experimentos de sequía, Capítulo 8, *In: Técnicas de Medición en Ecofisiología Vegetal*. Fernández, M.E. and Gyenge, J.E. (Eds). INTA Argentina, 13–24.
- Gil, H. M., Bota, J., Llompарт, J. C., Flexas, J., and León, J. G. (2007).** Eficiencia en el uso del agua por las plantas. *Investigaciones Geográficas*, (43), 63-84.
- González, L., and González-Vilar, M. (2001).** Determination of relative water content. *In: Handbook of plant ecophysiology techniques*. Manuel J. Reigosa Roger (Ed.). Springer Netherlands, 207-212.

- Heuer, B., and Nadler, A. (1995).** Growth and development of potatoes under salinity and water deficit. *Australian Journal of Agricultural Research*, 46(7), 1477-1486.
- IPCC (2013).** Fifth assessment report, WG1 AR5. <http://www.ipcc.ch/report/ar5/wg1/> (Último acceso junio 1015).
- IPCC (2015).** Carbon Dioxide: Projected emissions and concentrations. http://www.ipcc-data.org/observ/ddc_co2.html, (Último acceso noviembre 2015).
- Jeffery, R.A. (1995).** Physiology of crop response to drought. *In: Potato ecology and modeling of crops under conditions limiting growth*, Haverkort, A.J. and MacKerron D.K.L. (Eds.). Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, 61–74.
- Knipp, G., and Honermeier, B. (2006).** Effect of water stress on proline accumulation of genetically modified potatoes (*Solanum tuberosum* L.) generating fructans. *Journal of Plant Physiology*, 163(4), 392-397.
- Lahlou, O., Ouattar, S., and Ledent, J. F. (2003).** The effect of drought and cultivar on growth parameters, yield and yield components of potato. *Agronomie*, 23(3), 257-268.
- Liu, F., Jensen, C. R., Shahanzari, A., Andersen, M. N., and Jacobsen, S. E. (2005).** ABA regulated stomatal control and photosynthetic water use efficiency of potato (*Solanum tuberosum* L.) during progressive soil drying. *Plant Science*, 168(3), 831-836.
- Liu, F., Shahnazari, A., Andersen, M. N., Jacobsen, S. E., and Jensen, C. R. (2006).** Physiological responses of potato (*Solanum tuberosum* L.) to partial root-zone drying: ABA signalling, leaf gas exchange, and water use efficiency. *Journal of Experimental Botany*, 57(14), 3727-3735.

- Mane, S.P., Robinet, C.V., Ulanov, A., Schafleitner, R., Tincopa, L., Gaudin, A., Nomberto, G., Alvarado, C., Solis, C., Bolivar, LA., Blas, R., Ortega, O., Solis, J., Panta, A., Rivera, C., Samolski, I., Carbajulca, D.H., Bonierbale, M., Pati, A., Heath, L.S., Bohnert, H.J., and Grene, R. (2008).** Molecular and physiological adaptation to prolonged drought stress in the leaves of two Andean potato genotypes. *Functional Plant Biology*, 35(8), 669-688. doi: 10.1071/FP07293.
- Martin, E. C. (2010).** Métodos para medir la humedad del suelo para la programación del riego cuándo? Extensión Cooperativa de La Universidad de Arizona, EE.UU. 1-8. <http://extension.arizona.edu/pubs/az1220s.pdf>.
- Martínez, C. A., and Moreno, U. (1992).** Expresiones fisiológicas de resistencia a la sequía en dos variedades de papa sometidas a estrés hídrico en condiciones de campo. *Revista Brasileira de Fisiología Vegetal*, 4(1), 33-38.
- Martínez, J., Sánchez-Pérez, J. M., and Cammeraat, L. H. (1994).** La medida de la humedad del suelo mediante el método TDR (Time Domain Reflectometry): Estado del arte y ejemplos de aplicación. *In: Investigación en Zona Saturada*, I. Morell Evangelista (Ed.). Universitat Jaume I. Col.lecció Summa. Castellò, 17-27.
- Martinez, E. M., Cancela, J. J., Cuesta, T. S., and Neira, X. X. (2011).** Review. Use of psychrometers in field measurements of plant material: accuracy and handling difficulties. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 9(1), 313-328.
- Mendez, L., and Inostroza, F. (2009).** Manual de Papas para la Araucanía. Serie: Boletín INIA-Instituto de Investigaciones Agropecuarias. ISSN0717-4829, (Nº194), 57-69.
- Nagaz, K., Masmoudi, M.M., and Mechlia, N.B. (2007).** Soil salinity and yield of drip-irrigated potato under different irrigation regimes with saline water in arid conditions of Southern Tunisia. *Journal of Agronomy*, 6, 324-330.

- Pastuszka, T., Krzyszczak, J., Slawinski, C., and Lamorski, K. (2014).** Effect of Time-Domain Reflectometry probe location on soil moisture measurement during wetting and drying processes. *Measurement*, 49, 182-186.
- Rashidi, M., and Gholami, M. (2008).** Review of crop water productivity values for tomato, potato, melon, watermelon and cantaloupe in Iran. *International Journal of Agriculture and Biology*, 10, 432-436.
- Shahnazari, A., Liu, F., Andersen, M. N., Jacobsen, S. E., and Jensen, C. R. (2007).** Effects of partial root-zone drying on yield, tuber size and water use efficiency in potato under field conditions. *Field Crops Research*, 100(1), 117-124.
- Solomon, K. F., and Labuschagne, M. T. (2003).** Variation in water use and transpiration efficiency among durum wheat genotypes grown under moisture stress and non-stress conditions. *The Journal of Agricultural Science*, 141(01), 31-41.
- Tuberosa, R. (2012).** Phenotyping for drought tolerance of crops in the genomics era. *Frontiers in Physiology*, 3(3), 347.
- Turner, N. C., and Long, M. J. (1980).** Errors arising from rapid water loss in the measurement of leaf water potential by the pressure chamber technique. *Australian Journal of Plant Physiology*, 7(5), 527-537.
- Walker, J. P., Willgoose, G. R., and Kalma, J. D. (2004).** *In situ* measurement of soil moisture: a comparison of techniques. *Journal of Hydrology*, 293(1), 85-99.
- Weisz, R., Kaminski, J., and Smilowitz, Z. (1994).** Water deficit effects on potato leaf growth and transpiration: utilizing fraction extractable soil water for comparison with other crops. *American Potato Journal*, 71(12), 829-840.

SELECCIÓN DE GENOTIPOS DE PAPAS EN FUNCIÓN DE LOS ÍNDICES DE TOLERANCIA A SEQUÍA

*Patricio Sandaña
Paulina Villagra
Julio Kalazich
Marco Uribe
Raymundo Gutiérrez*

El estrés por sequía es el factor ambiental que más limita la productividad de los sistemas agrícolas y, por lo tanto, se han realizado considerables esfuerzos a través del mejoramiento genético para incrementar el rendimiento de diversos cultivos en condiciones de estrés hídrico, consecuencia de la sequía (Cattivelli *et al.*, 2008). Como ha sido expuesto en los capítulos anteriores, el cultivo de papa es particularmente sensible al estrés por sequía, debido en gran parte, al pobre desarrollo del sistema de raíces que presenta la papa (Iwama, 2008). En consecuencia, la búsqueda de genotipos de papa tolerantes a sequía está entre los principales objetivos de los programas de mejoramiento genético alrededor del mundo (Spitters y Schapendonk, 1990). Lo anterior no sólo es impulsado por el imperativo de incrementar los rendimientos, sino que también por la necesidad de hacer el cultivo más sustentable, a través del incremento en la captura y en la eficiencia del uso del agua, en términos del rendimiento de tubérculos obtenido por unidad de agua consumida (ver capítulo 7). Si bien ha habido mejoras, tanto en los rendimientos de los cultivos como en el entendimiento de las procesos fisiológicos y moleculares involucrados en la respuesta frente al estrés por déficit hídrico, aún existe una gran brecha entre los rendimientos alcanzados en condiciones óptimas y de estrés hídrico (Cattivelli *et al.*, 2008). En este sentido, la selección de genotipos de papa en condiciones de riego y secano permiten una identificación más confiable de genotipos tolerantes al estrés por sequía (Mitra, 2001).

ÍNDICES DE SELECCIÓN DE TOLERANCIA A SEQUÍA

En esta línea se han desarrollado una serie de Índices de Selección (**Tabla 8.1**) basados en relaciones matemáticas entre los rendimientos alcanzados en condiciones de riego y secano para diferentes cultivos (Fischer y Maurer, 1978; Rosielle y Hamblin, 1981; Fernández, 1992). Ejemplos de la aplicación de estos Índices de Selección se pueden encontrar en distintos cultivos, entre los cuales se incluye remolacha (Sadeghian *et al.*, 2000), trigo duro (Talebi *et al.*, 2009), porotos (Habibi, 2011), sorgo (Singh *et al.*, 2011), maíz (Mhike *et al.*, 2012), cebada (Khokhar *et al.*, 2012), trigo panadero (Drikvand *et al.*, 2012) y papa (de Souza Lambert *et al.*, 2006; Cabello *et al.*, 2013). Estos índices de selección buscan evaluar una gran canti-

Tabla 8.1. Índices de selección comúnmente utilizados en estudios para discriminar genotipos tolerantes al déficit hídrico en distintos cultivos.

Índices	Sigla en Inglés	Fórmula ¹	Fuente
Índice de tolerancia	TOL	$TOL = Y_p - Y_s$	Rosielle y Hamblin (1981)
Productividad media aritmética	MP	$MP = \frac{(Y_p + Y_s)}{2}$	Rosielle y Hamblin (1981)
Índice de susceptibilidad al estrés	SSI	$SSI = \frac{1 - \frac{Y_s}{Y_p}}{1 - \frac{X_s}{X_p}}$	Fischer y Maurer (1978)
Índice tolerancia al estrés	STI	$STI = \frac{(Y_p)(Y_s)}{(X_p)^2}$	Fernández (1992)
Productividad media geométrica	GMP	$GMP = \sqrt{(Y_p Y_s)}$	Fernández (1992)

Y_p y Y_s : rendimiento de cada genotipo en condiciones de riego y sequía (secano), respectivamente.

X_p y X_s : rendimiento promedio de todos los genotipos en condiciones de riego y sequía (secano), respectivamente.

dad de genotipos en dos condiciones, riego y secano, con el fin de seleccionar aquellos que logren buenos rendimientos tanto en condiciones óptima de riego (sin restricciones hídricas) como en condiciones de secano (con déficit hídrico). Un buen índice de selección debería identificar aquellos genotipos capaces de alcanzar altos rendimientos en ambas condiciones de disponibilidad hídrica. Por otra parte, el ambiente ideal para realizar este tipo de ensayos y aplicar estos Índices de Selección, son aquellos lugares donde exista poca precipitación o con sequía estival para el cultivo de papas.

RELACIÓN ENTRE EL RENDIMIENTO POR PLANTA Y LOS ÍNDICES DE SELECCIÓN MP, GMP Y STI EN PAPAS

En un reciente estudio en Perú, en el cual se evaluó un amplio número ($n = 918$) de genotipos de papa, se estableció que los mejores índices de selección, para identificar genotipos con alto rendimiento potencial y alto rendimiento bajo estrés hídrico, fueron los índices MP, GMP y STI (Cabello *et al.*, 2013). Similarmente, investigaciones desarrolladas en INIA Chile en ambientes de bajo y alto potencial de rendimiento (Santiago y Osorno, respectivamente), mostraron que el rendimiento bajo estrés hídrico se relacionó significativamente con los índices de selección MP, GMP y STI (**Figura 8.1**).

Respecto a la validación de lo Índices de Selección de Tolerancia a estrés en INIA Chile, cada temporada se evalúan a lo menos 30 genotipos de papas, bajo riego normal y bajo estrés hídrico tanto en la zona central (región Metropolitana) como en el sur de Chile (Osorno). En INIA-La Platina, se compararon los rendimientos bajo riego (Y_p) con 100% de reposición de la evapotranspiración (ET) versus los rendimientos bajo restricciones hídricas (Y_s) con sólo un 25 % del riego. En INIA-Remehue, se compararon los rendimientos bajo riego (Y_p) con 100% de reposición ET versus los rendimientos obtenidos bajo secano sin riego (Y_s). Cada temporada se determina el rendimiento (Y_{ld}), número y peso de tubérculos por planta e índices

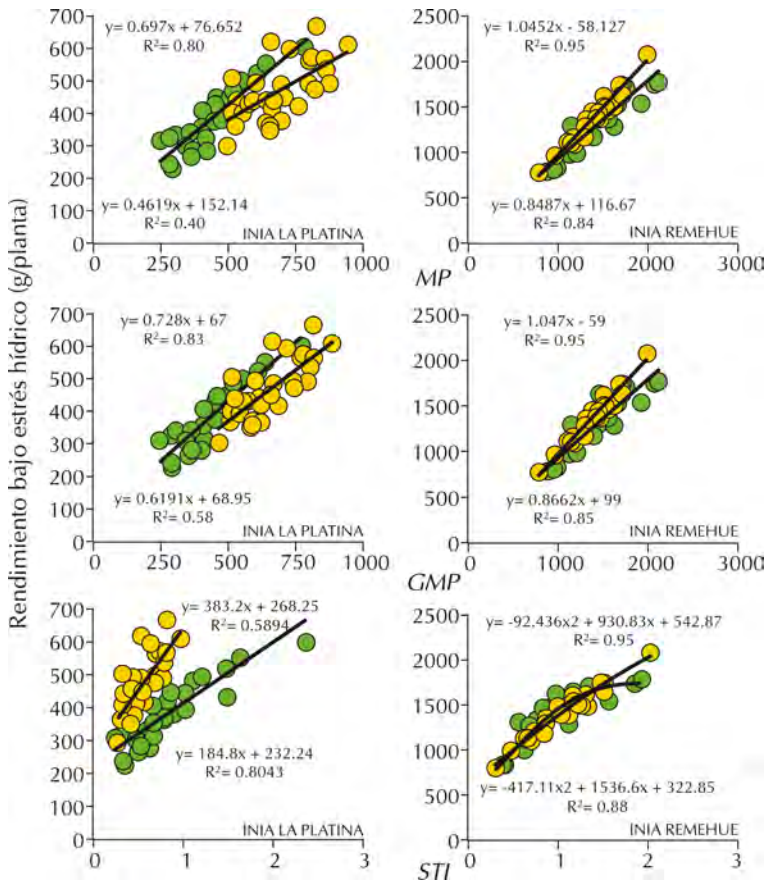


Figura 8.1. Relación entre el rendimiento por planta y los índices de selección MP, GMP y STI en 33 genotipos de papa cultivados en dos temporadas (símbolos verdes y amarillos) en Santiago (INIA La Platina, columna izquierda) y Osorno (INIA Remehue, columna derecha) en condiciones de riego y seco.

de selección de tolerancia a sequía. Estos “índices de selección”, tolerancia (TOL), productividad media (MP), índice de susceptibilidad a estrés (DSI), productividad-media-geométrica (PMG), índice de tolerancia al estrés (STI) y productividad-media-armónica (HMP) relacionan rendimiento bajo riego (Yr) vs rendimiento bajo sequía (Ys).

Tabla 8.2. Temperaturas y precipitaciones promedios en los centros regionales de INIA Chile, La Platina y Remehue, en los cuales se evaluaron 30 genotipos de papa bajo condiciones de riego-normal y sequía durante la temporada 2011-2012.

Temperaturas (°C)	INIA-Platina 33°34'12" Lat S			INIA-Remehue 40°31'11" Lat S		
	Promedio	Máxima	Mínima	Promedio	Máxima	Mínima
Octubre 2011	13,7	29,9	-2,1	10,0	16,4	4,7
Noviembre 2011	17,2	32,6	5,7	12,3	18,7	7,1
Diciembre 2011	19,9	33,0	7,5	15,3	22,9	8,6
Enero 2012	20,3	32,8	8,4	16,9	24,9	9,8
Febrero 2012	20,9	33,7	9,3	14,4	21,3	8,0
Marzo 2012	19,7	34,9	7,8	13,9	21,2	7,9
Temperatura promedio durante el periodo del cultivo	18,6	32,8	6,1	13,8	20,9	7,7
Precipitaciones (mm)	Total mensual			Total Mensual		
Octubre 2011	0,0	0,0			43,1	
Noviembre 2011	0,0	0,0			29,3	
Diciembre 2011	0,0	0,0			17,3	
Enero 2012	0,0	0,0			41,0	
Febrero 2012	0,0	0,0			99,0	
Marzo 2012	0,0	0,0			19,0	
Precipitaciones acumuladas durante el periodo del cultivo	0,0	0,0			279,0	

En INIA-La Platina la temporada fue seca y calurosa, sin precipitaciones acumuladas durante el periodo de desarrollo del cultivo, por lo tanto, los genotipos fueron sometido a alto grado de estrés. En INIA-Remehue la temporada de cultivo registró una precipitación total acumulada de 279 mm desde octubre a marzo. Sin embargo, durante los meses de pleno llenado de tubérculos (enero a febrero del 2012) se registraron precipitaciones desuniformes, con estrés hídrico moderado (**Tabla 8.2**). Los resultados de esta temporada (Figura 8.1) mostraron que el rendimiento bajo estrés hídrico en 30 genotipos de papa se relacionó significativamente con los índices de selección MP, GMP y STI.

Estos resultados, sugieren que estos índices podrían ser utilizados en programas de mejoramiento genético para la selección de genotipos eficientes en el uso de agua tanto en condiciones de alto potencial de rendimiento como en condiciones de estrés hídrico. Por ejemplo, en la **Figura 8.2**, donde se muestra la relación entre el rendimiento bajo estrés por sequía y el índice GMP, se identificaron los genotipos (en azul) con alto índice y alto rendimiento. Estos genotipos corresponden actualmente a líneas avanzadas del programa de mejoramiento genético de INIA Chile y que podrían llegar a ser, en un futuro cercano, variedades tolerantes al estrés por sequía.

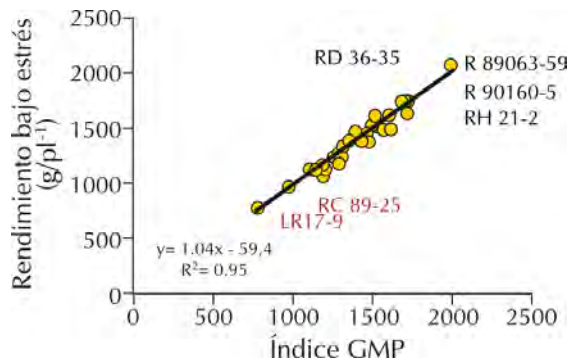


Figura 8.2. Relación entre el rendimiento por planta y el índice GMP en 33 genotipos de papa cultivados en Osorno (INIA Remehue) en condiciones de riego y secano. En negro se muestran genotipos con tolerancia a sequía, mientras que en rojo se presentan genotipos susceptibles a este estrés.

En conclusión, en programas de mejoramiento genético de papa u otros cultivos, en los cuales cada año se evalúa un alto número de genotipos, la utilización de índices de selección que permitan discriminar genotipos con buenos rendimientos tanto en presencia como ausencia de estrés por sequía son de gran valor en la búsqueda de genotipos tolerantes al estrés por sequía. En el cultivo de papa, los índices MP, GMP y STI son buenos candidatos para ser utilizados en mejoramiento genético, ya que tanto en Perú como en Chile han permitido discriminar genotipos según sus respuestas en rendimiento al estrés por sequía.

LITERATURA CONSULTADA

- Cattivelli, L., Rizza, F., Badeck, F. W., Mazzucotelli, E., Mastrangelo, A. M., Francia, E., Mare C., Tondelli A., and Stanca, A. M. (2008).** Drought tolerance improvement in crop plants: an integrated view from breeding to genomics. *Field Crops Research*, 105(1), 1-14.
- Cabello, R., Monneveux, P., De Mendiburu, F., and Bonierbale, M. (2013).** Comparison of yield based drought tolerance indices in improved varieties, genetic stocks and landraces of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Euphytica*, 193(2), 147-156.
- de Souza Lambert, E., Pinto, C. A. B. P., and de Menezes, C. B. (2006).** Potato improvement for tropical conditions: I. Analysis of stability. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 6, 185-193.
- Drikvand, R., Hossinpur, T., Ismaili, A., and Salahvarzi, E. (2012).** Assessment of drought tolerance indices for screening of rain fed wheat genotypes. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 10, 768-772.
- Fernandez, G. C. (1992).** Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In: Proceedings of the international symposium on adaptation of vegetables and other food crops in temperature and water stress, KUO CG (Ed.) *Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, TW*, 257-270.

- Fischer, R. A., and Maurer, R. (1978).** Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. *Crop and Pasture Science*, 29(5), 897-912.
- Habibi, G. (2011).** Influence of drought on yield and yield components in white bean. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 55, 244-253.
- Iwama, K. (2008).** Physiology of the potato: new insights into root system and repercussions for crop management. *Potato Research*, 51(3-4), 333-353.
- Khokhar, M. I., Teixeira da Silva, J. A., and Spiertz, H. (2012).** Evaluation of barley genotypes for yielding ability and drought tolerance under irrigated and water-stressed conditions. *American-Eurasian J. Agric. and Environ. Sci.*, 12, 287-292.
- Mhike, X., Okori, P., Magorokosho, C., and Ndlela, T. (2012).** Validation of the use of secondary traits and selection indices for drought tolerance in tropical maize (*Zea mays* L.). *African Journal of Plant Science*, 6(2), 96-102.
- Mitra, J. (2001).** Genetics and genetic improvement of drought resistance in crop plants. *Current Science-Bangalore*, 80(6), 758-763.
- Rosielle, A. A., and Hamblin, J. (1981).** Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environment. *Crop Science*, 21(6), 943-946.
- Spitters, C.J.T., and Schapendonk, A.H.C.M. (1990).** Evaluation of breeding strategies for drought tolerance in potato by means of crop growth simulation. *Plant and Soil*, 123, 193-203.
- Sadeghian, S. Y., Fazli, H., Mohammadian, R., Taleghani, D. F., and Mesbah, M. (2000).** Genetic variation for drought stress in sugar-beet. *Journal of Sugar Beet Research*, 37(3), 55-78.

Singh, B. U., Rao, K. V., and Sharma, H. C. (2011). Comparison of selection indices to identify sorghum genotypes resistant to the spotted stemborer *Chilo partellus* (Lepidoptera: Noctuidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, 31(1-2), 38-51.

Talebi, R., Fayaz, F., and Naji, A. M. (2009). Effective selection criteria for assessing drought stress tolerance in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *General and Applied Plant Physiology*, 35(1/2), 64-74.

MITIGANDO LOS EFECTOS DE LA SEQUÍA EN PAPA: ALGUNOS ALCANCES Y RETOS

*David A. Ramírez
Philippe Monneveux
Roberto Quiroz*

El cultivo de papa sufre regularmente de deficiencia de agua causada por precipitación insuficiente o técnicas de riego inadecuadas (Thiele *et al.*, 2010). Se predice un impacto creciente de la sequía sobre la producción de papa en los años que vienen debido al cambio climático y a la extensión del cultivo en zonas afectadas por déficit hídrico (Monneveux *et al.*, 2013). Es factible una mitigación de los efectos de la sequía no solo a través de un mejoramiento genético de la tolerancia a la sequía, sino también mediante un monitoreo más preciso de riego para ahorrar el agua disponible sin afectar significativamente el rendimiento. En los dos casos, se requiere un conocimiento adecuado de la fisiología de la planta, en particular de su respuesta a diferentes escenarios de sequía, definidos como combinación de su momento de ocurrencia, duración e intensidad. Otro aspecto importante es la identificación de los rasgos fenológicos, morfológicos o fisiológicos que, debido a su asociación con el rendimiento, pueden ser utilizados como criterios indirectos de selección o como indicadores para un monitoreo racional del riego. Estos aspectos son revisados en el siguiente capítulo.

ESCENARIOS DE SEQUÍA E IMPACTO SOBRE EL RENDIMIENTO

Los efectos de la sequía en cultivos dependen de tres factores: momento de ocurrencia, duración e intensidad del estrés (Jefferies, 1995). Las características del suelo pueden inferir, a su vez en la duración e intensidad del estrés (Chenu *et al.*, 2011; Heinemann *et*

al., 2008). El escenario de sequía, que se define por la combinación de esos tres factores, constituye la base en la categorización de ambientes restringidos por agua en los planes de mejoramiento e introducción de genotipos. El efecto del momento de ocurrencia de la sequía para un cultivo depende de “fases fenológicas claves”, definidas como periodos de desarrollo durante los cuales un estrés de una determinada intensidad causa un mayor impacto sobre algún componente del rendimiento. En el caso de la papa, se pueden definir tres fases fenológicas claves en el ciclo de desarrollo (Streck *et al.*, 2007): i) *fase temprana*, desde la emergencia (E) hasta el inicio de tuberización (IT), ii) *fase intermedia o de tuberización*, desde el IT hasta el momento de máxima cobertura vegetal (CC_{max}) la cual es distinguida por algunos autores como el inicio de senescencia (Yin, 2013), y iii) *fase tardía o de senescencia*, desde CC_{max} hasta la cosecha. La definición de escenarios de sequía basados en el momento de ocurrencia de restricción hídrica en relación con las fases fenológicas claves, requiere una determinación apropiada del inicio de cada fase. Al respecto, el tiempo termal acumulado o temperatura diaria sobre un umbral ($^{\circ}C$ días, Wang, 1960) representa una herramienta útil para la definición de fases fenológicas, tanto en papa (Jefferies y Mackerron, 1987; Streck *et al.*, 2007) como en camote (Villordon *et al.*, 2009a, 2009b, 2013). Tardieu (2013) sugiere que el tiempo termal, bajo algunas condiciones, permite extrapolar la respuesta del crecimiento de la planta en invernadero a las condiciones del campo. Esta utilización particular del tiempo termal acumulado ha dado buenos resultados en camote (Villordon *et al.*, 2009b), y puede ser un buen punto de partida para la predicción de estadíos claves en ensayos de campo en papa (Ramírez *et al.*, 2013).

La combinación de la intensidad de sequía, duración y fase fenológica de ocurrencia puede servir de marco para la definición de escenarios de sequía para la papa (**Figura 9.1**). Así, en este cultivo ha sido demostrado que la sequía severa en la fase temprana causa importantes reducciones en número de tubérculos (Mackerron y Jefferies, 1986) y rendimiento final (Deblonde *et al.*, 1999). En un experimento en el que se combinaron dos momentos de sequía (temprana y tardía, luego del IT y a un mes del IT respectivamente) y cuatro intensidades, en una zona árida al sur de Perú, se obtuvo una

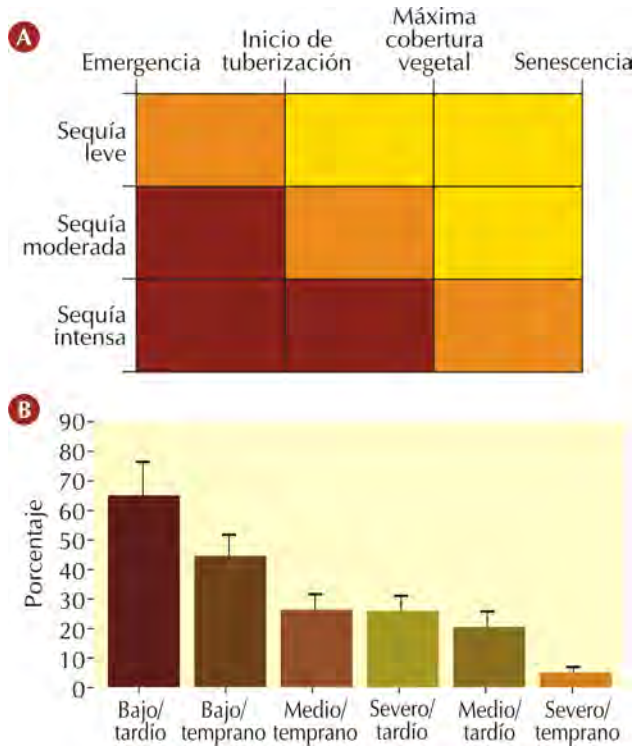


Figura 9.1. A). Repercusión en el rendimiento de acuerdo a diferentes escenarios de sequía definidos por el momento de ocurrencia de la sequía con diversas intensidades (sequía leve, moderada e intensa) en algunas fases fenológicas clave. Los cuadros en color amarillo, naranja y café, representan una reducción en el rendimiento baja, media y alta (<20%, 20-70% y >70% respectivamente).

B). Porcentaje medio del rendimiento de tubérculos respecto al control de seis tratamientos combinando diferentes escenarios de sequía definidas por la intensidad de sequía/momento de ocurrencia en un ensayo llevado a cabo en una zona árida al sur de Perú (Arequipa; 16° 29.6' S, 72° 05.7'O, 1292 m.s.n.m.). Los tratamientos de intensidades de sequía fueron establecidos por porcentaje del contenido volumétrico agua en el suelo: 20%, 13%, 10% y sin riego (control, estrés bajo, medio y severo respectivamente); mientras que los momentos de ocurrencia de estrés fueron establecidos luego del inicio de tuberización (IT) y a un mes del IT (estrés Temprano y Tardío).

reducción de rendimiento de tubérculo respecto al control ($23.5 \pm 4.0 \text{ t ha}^{-1}$) con el siguiente patrón descendente (Figura 9.1): Severo/Temprano (95.2% de reducción) > Severo/Tardío \approx Moderado/Tardío \approx Moderado/Temprano (entre 73.7 y 79.7% de reducción) > Bajo/Temprano (55.4% de reducción) > Bajo/Tardío (35.1% de reducción). Coherente con el modelo presentado en Figura 9.1, la sequía severa y temprana llevó a la mayor penalización en el rendimiento, mientras que la sequía de intensidad baja y tardía coincidió con la menor pérdida de rendimiento (Figura 9.1). Cabe resaltar que algunos autores han enfatizado que un estrés leve en las fases iniciales de desarrollo puede llevar a una aclimatación (Rowland *et al.*, 2012) causando una reducción no significativa en el rendimiento final y permitiendo una mejor respuesta a posteriores eventos de restricción hídrica.

MONITOREO DE RASGOS DE LA PLANTA BAJO SEQUÍA

Algunos rasgos fenológicos, morfológicos y fisiológicos de la planta, que muestran una asociación con el rendimiento, representan potenciales criterios de selección indirecta bajo restricción hídrica. No obstante, el éxito en la elección de dichos rasgos depende del tipo de escenario de sequía operante. Así, según Tardieu (2012), la eficiencia en el uso del agua (WUE) y la reducción de área foliar son rasgos que optimizan el rendimiento en condiciones de estrés terminal severo. Sin embargo, dichos rasgos no son apropiados en escenarios de sequía moderada, donde genotipos con alta conductancia estomática (bajo WUE), capaces de aprovechar de manera “oportunistamente” los pulsos de agua, se revelan como más efectivos en el uso del agua (Blum, 2009). En un estudio reciente en papa, Ramírez *et al.* (2015a) reportaron que genotipos “oportunistas” como la variedad Sarnav (código CIP 397077.16) poseen características fotosintéticas que le permiten procesar más eficientemente el carbono fijado en condiciones óptimas de agua. Por otro lado, en condiciones de sequía, el ajuste osmótico y mecanismos de protección contra especies reactivas de oxígeno a través de la síntesis de enzimas de detoxificación (Legay *et al.*, 2011), son rasgos que le permiten a Sarnav obtener buenos rendimientos en comparación con otros

genotipos (Carli *et al.*, 2014; Ramírez *et al.*, 2015a; Rolando *et al.*, 2015). La resiliencia de un genotipo, definida como la diversidad de respuesta ante un amplio rango de escenarios hídricos, se muestra como una característica idónea ante la incertidumbre de ocurrencia de escenarios futuros.

Algunos rasgos en papa han sido asociados a la tolerancia a la sequía¹. Entre ellos cabe destacar: el verdor de las hojas y retardo en la senescencia (Ramírez *et al.*, 2014; Rolando *et al.*, 2015), la discriminación isotópica del carbono (Δ , Ramírez *et al.*, 2015a), el número de estolones de raíces (Wishart *et al.*, 2014), el ajuste osmótico (Xu *et al.*, 2011; Yactayo *et al.*, 2013) entre otros (Monneveux *et al.*, 2013). Dichos rasgos de tolerancia son variables de respuesta lenta, es decir, se manifiestan como producto de una integración de procesos relacionados con la fotosíntesis (Δ en hojas), movilización y asignación de carbono (Δ en tubérculos), crecimiento de hojas (verdor) y partición de carbono a ciertos órganos. Por otro lado, existen rasgos que son más sensibles a cambios a lo largo del día por una combinación de factores endógenos (ritmo circadiano, ver **Figura 9.2**) y exógenos (fenología, condición de estrés biótico o abiótico). Una medición de estos rasgos requiere, por lo tanto, una excelente caracterización y estabilidad de los factores de variación (particularmente climáticos) difíciles de asegurar en condiciones de campo y en caso de periodos de medición largos. Dentro de este grupo de rasgos se encuentra el intercambio de gases foliar (conductancia estomática, fotosíntesis neta, transpiración), la fluorescencia de las clorofilas, el contenido de agua en hojas entre otros (ver **Figura 9.3**). Las variables de respuesta lenta pueden ser utilizadas como base para la selección indirecta de genotipos tolerantes al estrés hídrico, mientras que las variables de respuesta rápida pueden contribuir en la detección temprana de estrés para la determinación de calendarios de riego. No obstante, para ambos tipos de variables es importante tener en cuenta el momento más idóneo para llevar a cabo el monitoreo durante una determinada etapa fenológica (Rolando *et al.*, 2015; Ra-

¹ La tolerancia a la sequía es definida como el rendimiento alcanzado en condiciones de restricción hídrica respecto al rendimiento en condiciones hídricas óptimas (control), ver un análisis de diferentes índices en Cabello *et al.* (2013).

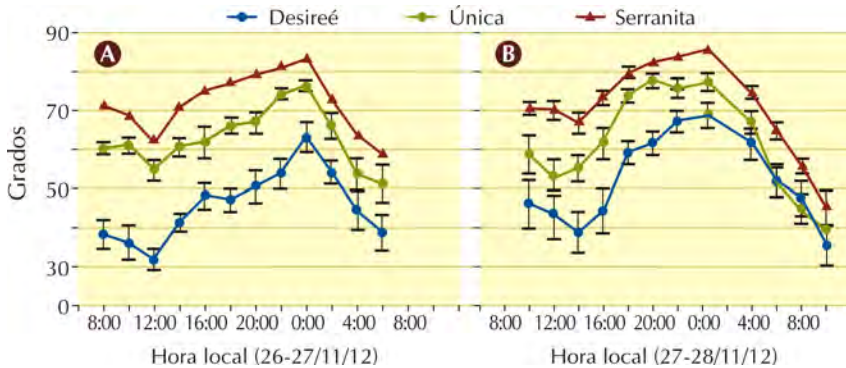


Figura 9.2. Ritmo circadiano en papa evaluado a través del movimiento de las hojas a lo largo del día en tres variedades. Las medidas de ángulos foliares se tomaron en condiciones de luz natural. **(A)** En un ambiente totalmente cerrado iluminado todo el día únicamente con una bombilla incandescente ($\approx 5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiación fotosintéticamente activa.

(B) En la Estación CIP-Lima (Perú). Ángulos mayores indican hojas verticales mientras que ángulos agudos representan hojas horizontales. A pesar que las plantas en B no tuvieron acceso a la luz del día, mostraron un patrón de movimiento de las hojas similar a las plantas en condiciones de luz natural debido a la regulación circadiana.

mírez *et al.*, 2014; Ramírez *et al.*, 2015a) o algún momento durante el día (Figura 9.3). Recientemente en papa se ha puesto énfasis en el monitoreo de la temperatura la cubierta vegetal como un proxy del estatus hídrico por su relación con la conductancia estomática. Dicho rasgo medido por termometría infrarroja ha sido propuesto para el fenotipado de materiales tolerantes a la sequía (Prashar *et al.*, 2013), así como para la detección de estrés en tratamientos de restricción hídrica a una mayor escala (Rud *et al.*, 2014). Algunos autores han propuesto valores umbrales de conductancia estomática de $0.1 - 0.15 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Flexas *et al.*, 2004, 2006) como un referente para evitar daños irreversibles en la fotosíntesis. La buena correlación entre la conductancia estomática e índices de estrés hídrico basados en termometría infrarroja reportados en papa (Rud *et al.*, 2014), se revelan muy útiles en el monitoreo del riego con la finalidad de lograr una recuperación en la fotosíntesis ahorrando agua y evitando una reducción significativa en el rendimiento de tubérculos.

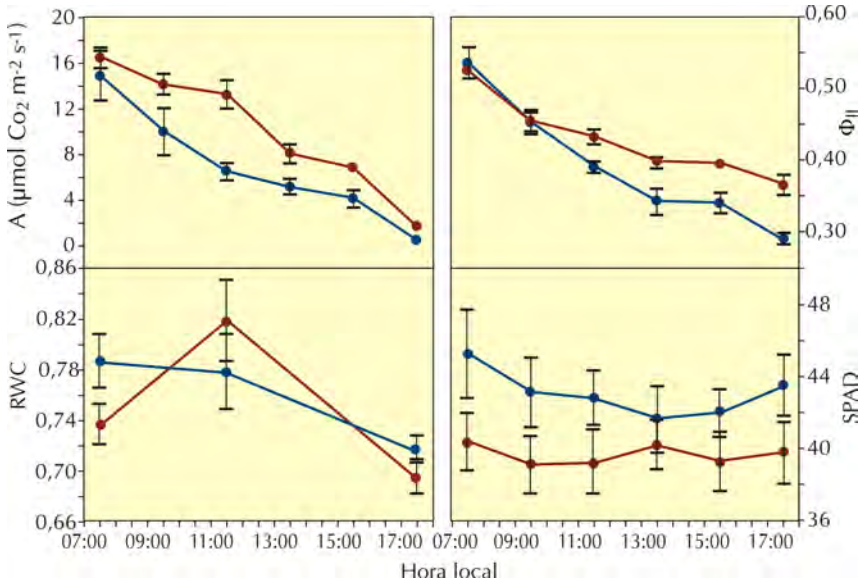


Figura 9.3. Monitoreo a lo largo del día de algunos rasgos fisiológicos medidos en la variedad Sarnav en condiciones control y bajo sequía (círculos color café y azules respectivamente). A = tasa de fotosíntesis neta máxima media a condiciones de saturación de luz ($1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiación fotosintéticamente activa), Φ_{II} = Rendimiento cuántico efectivo medido a condiciones de saturación de luz, RWC = contenido relativo de agua en los folíolos, SPAD = concentración de clorofilas tomado por medidor de clorofila portátil (unidades SPAD). A pesar que A y Φ_{II} fueron medidos a largo del día bajo las mismas condiciones fijadas en la cubeta de un medidor de fotosíntesis portátil (LI-6400 TX, LI-COR Inc., Nebraska – EEUU) se detectaron diferentes variaciones horarias entre control y sequía provocadas por factores endógenos (ritmo circadiano) y exógenos.

MANEJO DEL AGUA Y MEJORA DE LA MEMORIA AL ESTRÉS HÍDRICO

El cultivo de papa está expandiéndose en áreas propensas a la sequía alrededor del mundo (Monneveux *et al.*, 2013). Bajo este escenario el desarrollo de técnicas de manejo tales como el desecado parcial de raíces (PRD, por su sigla en inglés, Partial Root-zone Drying), la irrigación deficitaria y el riego por goteo, pueden ahorrar importantes

cantidades de agua en este cultivo (Hou *et al.*, 2010; Jensen *et al.*, 2010; Jovanovic *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2006; Saeed *et al.*, 2008; Shahnazari *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2006, 2011; Xie *et al.*, 2012; Xu *et al.*, 2011 Yactayo *et al.*, 2013b; Yan *et al.*, 2012; Yuan *et al.*, 2003). No obstante, el efecto en el rendimiento de estas técnicas depende del momento, duración e intensidad de la restricción hídrica aludidas anteriormente. Respecto al PRD, Saeed *et al.* (2008), obtuvieron un mayor ahorro de agua con una pequeña reducción de rendimiento de tubérculos respecto al control en tratamientos de PRD iniciados en la fase temprana del ciclo del cultivo. Xu *et al.* (2011) reportaron mayor ajuste osmótico, fotosíntesis máxima, índice de área foliar y rendimiento de tubérculos en el PRD establecido en esta misma fase temprana. La aplicación del PRD en fases tempranas de desarrollo parece inducir una “memoria” a la sequía a corto plazo desencadenando una serie de mecanismos epigenéticos que permiten a la planta afrontar de mejor manera un siguiente evento de estrés dentro del mismo ciclo de crecimiento. Así, Yactayo *et al.* (2013) testando el efecto de diferentes momentos de establecimiento de PRD en la variedad UNICA obtuvo que un tratamiento de PRD luego del inicio de tuberización mostró un rendimiento de tubérculos sin diferencias significativas respecto al control, permitiendo a su vez un ahorro de agua de más del 20%. No obstante, la inducción de memoria aludida en papa parece tener efecto no solo a corto plazo (durante una misma estación de crecimiento), sino también en un siguiente ciclo de crecimiento (memoria a la sequía a largo plazo). Así Ramírez *et al.* (2015b), observaron que individuos provenientes de tubérculos aclimatados, es decir generados por plantas sometidas a un estrés hídrico en un ciclo de crecimiento anterior, mostraron en condiciones de sequía mayor rendimiento de tubérculo, actividad antioxidante y Δ de tubérculo, en comparación con individuos provenientes de tubérculos no aclimatados. Dicha memoria a la sequía a largo plazo no obstante fue genotipo-dependiente presentándose como una promisorio forma de imprimir tolerancia a la sequía en los planes de manejo de semillas (Ramírez *et al.*, 2015b).

En conclusión, los alcances mostrados en este capítulo muestran que gran parte del manejo de la sequía en papa depende de la

comprensión del efecto de los diferentes escenarios de sequía y de la respuesta de diferentes rasgos que operan a distintas escalas. El cálculo de la demanda de agua del cultivo por medio de la modelación representa una importante herramienta que puede ayudar en la clasificación de ambientes objetivo por medio de la determinación de probabilidad de sequía en las diferentes fases fenológicas del cultivo (ver por ejemplo Monneveux *et al.*, 2014). La determinación del momento idóneo para el monitoreo de rasgos de respuesta lenta y rápida es un prerrequisito indispensable en el fenotipado apropiado de materiales en condiciones de sequía, y en la definición de umbrales fisiológicos para la determinación de calendarios de riego. Finalmente, un manejo del agua haciendo uso de estos conceptos y herramientas puede ayudar en el ahorro de agua sin una penalización acusada del rendimiento e incluso en la inducción de la memoria a la sequía a corto y largo plazo.

Agradecimientos

Agradecemos a Wendy Yactayo, Libby Rens, José Rolando, Nikolai Alarcón y Jesús Zamalloa por su ayuda en la colecta de datos de los resultados mostrados. Las investigaciones presentadas en este capítulo han sido financiadas por los siguientes Programas de Investigación del CGIAR (CRPs): Root Tubers and Bananas (RTB), Water Land and Ecosystems (WLE) y Climate Change, Agriculture and Food Security (CCAFS).

LITERATURA CONSULTADA

Blum, A. (2009). Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crops Research*, 112(2), 119-123.

Cabello, R., Monneveux, P., De Mendiburu, F., and Bonierbale, M. (2013). Comparison of yield based drought tolerance indices in improved varieties, genetic stocks and landraces of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Euphytica*, 193(2), 147-156.

- Carli, C., Yuldashev, F., Khalikov, D., Condori, B., Mares, V., and Monneveux, P. (2014).** Effect of different irrigation regimes on yield, water use efficiency and quality of potato (*Solanum tuberosum* L.) in the lowlands of Tashkent, Uzbekistan: a field and modeling perspective. *Field Crops Research*, 163, 90-99.
- Chenu, K., Cooper, M., Hammer, G. L., Mathews, K. L., Dreccer, M. F., and Chapman, S. C. (2011).** Environment characterization as an aid to wheat improvement: interpreting genotype–environment interactions by modelling water-deficit patterns in North-Eastern Australia. *Journal of Experimental Botany*, 62(6), 1743-1755.
- Deblonde, P. M. K., Haverkort, A. J., and Ledent, J. F. (1999).** Responses of early and late potato cultivars to moderate drought conditions: agronomic parameters and carbon isotope discrimination. *European Journal of Agronomy*, 11(2), 91-105.
- Flexas, J., Bota, J., Cifre, J., Mariano Escalona, J., Galmés, J., Gulías, J., Lefi, E.-K., Martínez-Cañellas, F.S., Moreno, T., Ribas-Carbó, M., Riera, D., Sampol, B., and Medrano, H. (2004).** Understanding down-regulation of photosynthesis under water stress: future prospects and searching for physiological tools for irrigation management. *Annals of Applied Biology*, 144(3), 273-283.
- Flexas, J., Bota, J., Galmes, J., Medrano, H., and Ribas-Carbó, M. (2006).** Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia Plantarum*, 127(3), 343-352.
- Gil, H. M., Bota, J., Llopart, J. C., Flexas, J., and León, J. G. (2007).** Eficiencia en el uso del agua por las plantas. *Investigaciones Geográficas*, (43), 63-84.
- Heinemann, A. B., Dingkuhn, M., Luquet, D., Combres, J. C., and Chapman, S. (2008).** Characterization of drought stress environments for upland rice and maize in central Brazil. *Euphytica*, 162(3), 395-410.

- Hou, X. Y., Wang, F. X., Han, J. J., Kang, S. Z., and Feng, S. Y. (2010).** Duration of plastic mulch for potato growth under drip irrigation in an arid region of Northwest China. *Agricultural and Forest Meteorology*, 150(1), 115-121.
- Jefferies, R. A. (1995).** Physiology of crop response to drought. *In: Potato Ecology and Modeling of Crops under Conditions Limiting Growth.* Haverkort, A.J. and MacKerron, D.K.L. (Eds.), Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, 61–74.
- Jefferies, R. A., and MacKerron, D. K. L. (1987).** Aspects of the physiological basis of cultivar differences in yield of potato under droughted and irrigated conditions. *Potato Research*, 30(2), 201-217.
- Jensen, C. R., Battilani, A., Plauborg, F., Psarras, G., Chartzoulakis, K., Janowiak, F., Stikic, R., Jovanovic, Z., Li, G.T., Qi, X.B., Liu, F., Jacobsena, S-E., and Andersen, M. N. (2010).** Deficit irrigation based on drought tolerance and root signalling in potatoes and tomatoes. *Agricultural Water Management*, 98(3), 403-413.
- Jovanovic, Z., Stikic, R., Vucelic-Radovic, B., Paukovic, M., Brocic, Z., Matovic, G., Rovcanin, S., and Mojevic, M. (2010).** Partial root-zone drying increases WUE, N and antioxidant content in field potatoes. *European Journal of Agronomy*, 33(2), 124-131.
- Legay, S., Lefèvre, I., Lamoureux, D., Barreda, C., Luz, R. T., Gutierrez, R., Quiroz, R., Hoffmann, L., Hausman, J.F., Bonierbale, M., and Schafleitner, R. (2011).** Carbohydrate metabolism and cell protection mechanisms differentiate drought tolerance and sensitivity in advanced potato clones (*Solanum tuberosum* L.). *Functional and Integrative Genomics*, 11(2), 275-291.
- Liu, F., Shahnazari, A., Andersen, M. N., Jacobsen, S. E., and Jensen, C. R. (2006).** Effects of deficit irrigation (DI) and partial root drying (PRD) on gas exchange, biomass partitioning, and water use efficiency in potato. *Scientia Horticulturae*, 109(2), 113-117.

- MacKerron, D. K. L., and Jefferies, R. A. (1986).** The influence of early soil moisture stress on tuber numbers in potato. *Potato Research*, 29(3), 299-312.
- Monneveux, P., Ramírez, D. A., and Pino, M. T. (2013).** Drought tolerance in potato (*S. tuberosum* L.): Can we learn from drought tolerance research in cereals?. *Plant Science*, 205, 76-86.
- Monneveux, P., Ramírez, D. A., Khan, M. A., Raymundo, R. M., Loayza, H., and Quiroz, R. (2014).** Drought and heat tolerance evaluation in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Potato Research*, 57(3-4), 225-247.
- Prashar, A., Yildiz, J., McNicol, J. W., Bryan, G. J., and Jones, H. G. (2013).** Infra-red thermography for high throughput field phenotyping in *Solanum tuberosum*. *PloS one*, 8(6), e65816.
- Ramírez, D.A., Yactayo, W., Rolando, J.L., Mares, V., De Mendiburu, F., and Quiroz, R. (2013).** Can physiological traits in potato denote tuberization stages and tuber yield under water restriction? *In: Proceedings 2nd International Symposium on Agronomy and Physiology of Potato*, 15-16 September 2013, Prague.
- Ramírez, D. A., Yactayo, W., Gutiérrez, R., Mares, V., De Mendiburu, F., Posadas, A., and Quiroz, R. (2014).** Chlorophyll concentration in leaves is an indicator of potato tuber yield in water-shortage conditions. *Scientia Horticulturae*, 168, 202-209
- Ramírez, D. A., Rolando, J. L., Yactayo, W., Monneveux, P., and Quiroz, R. (2015a).** Is Discrimination of ¹³C in Potato Leaflets and Tubers an Appropriate Trait to Describe Genotype Responses to Restrictive and Well-Watered Conditions? *Journal of Agronomy and Crop Science*, 201, 410-418.
- Ramírez, D. A., Rolando, J. L., Yactayo, W., Monneveux, P., Mares, V., and Quiroz, R. (2015b).** Improving potato drought tolerance through the induction of long-term water stress memory. *Plant Science*, 238, 26-32.

- Rolando, J. L., Ramírez, D. A., Yactayo, W., Monneveux, P., and Quiroz, R. (2015).** Leaf greenness as a drought tolerance related trait in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 110, 27-35.
- Rowland, D. L., Faircloth, W. H., Payton, P., Tissue, D. T., Ferrell, J. A., Sorensen, R. B., and Butts, C. L. (2012).** Primed acclimation of cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) through the use of deficit irrigation timed to crop developmental periods. *Agricultural Water Management*, 113, 85-95.
- Rud, R., Cohen, Y., Alchanatis, V., Levi, A., Brikman, R., Shenderey, C., Heuer, B., Markovitch, T., Dar, Z., Rosen, C., Mulla, D., and Nigon, T. (2014).** Crop water stress index derived from multi-year ground and aerial thermal images as an indicator of potato water status. *Precision Agriculture*, 15(3), 273-289.
- Saeed, H., Grove, I. G., Kettlewell, P. S., and Hall, N. W. (2008).** Potential of partial rootzone drying as an alternative irrigation technique for potatoes (*Solanum tuberosum*). *Annals of Applied Biology*, 152(1), 71-80.
- Shahnazari, A., Liu, F., Andersen, M. N., Jacobsen, S. E., and Jensen, C. R. (2007).** Effects of partial root-zone drying on yield, tuber size and water use efficiency in potato under field conditions. *Field Crops Research*, 100(1), 117-124.
- Streck, N. A., de Paula, F. L. M., Bisognin, D. A., Heldwein, A. B., and Dellai, J. (2007).** Simulating the development of field grown potato (*Solanum tuberosum* L.). *Agricultural and Forest Meteorology*, 142(1), 1-11.
- Tardieu, F. (2012).** Any trait or trait-related allele can confer drought tolerance: just design the right drought scenario. *Journal of Experimental Botany*, 63(1), 25-31.

- Tardieu, F. (2013).** Plant response to environmental conditions: assessing potential production, water demand, and negative effects of water deficit. *Frontiers in Physiology*, 4, 1-11.
- Thiele, G., Theisen, K., Bonierbale, M., and Walker, T. (2010).** Targeting the poor and hungry with potato science. *Potato Journal*, 37(3-4), 75-86.
- Villordon, A., Clark, C., Ferrin, D., and LaBonte, D. (2009a).** Using growing degree days, agrometeorological variables, linear regression, and data mining methods to help improve prediction of sweetpotato harvest date in Louisiana. *HortTechnology*, 19(1), 133-144.
- Villordon, A., LaBonte, D., and Firon, N. (2009b).** Development of a simple thermal time method for describing the onset of morpho-anatomical features related to sweetpotato storage root formation. *Scientia Horticulturae*, 121(3), 374-377.
- Villordon, A., LaBonte, D., Firon, N., and Carey, E. (2013).** Variation in Nitrogen rate and local availability alter root architecture attributes at the onset of storage root initiation in 'Beauregard' sweetpotato. *HortScience*, 48(6), 808-815.
- Wang, J. Y. (1960).** A critique of the heat unit approach to plant-response studies. *Ecology*, 41, 785-790.
- Wang, F. X., Kang, Y., and Liu, S. P. (2006).** Effects of drip irrigation frequency on soil wetting pattern and potato growth in North China Plain. *Agricultural Water Management*, 79(3), 248-264.
- Wang, F. X., Wu, X. X., Shock, C. C., Chu, L. Y., Gu, X. X., and Xue, X. (2011).** Effects of drip irrigation regimes on potato tuber yield and quality under plastic mulch in arid Northwestern China. *Field Crops Research*, 122(1), 78-84.

- Wishart, J., George, T. S., Brown, L. K., White, P. J., Ramsay, G., Jones, H., and Gregory, P. J. (2014).** Field phenotyping of potato to assess root and shoot characteristics associated with drought tolerance. *Plant and Soil*, 378(1-2), 351-363.
- Xie, K., Wang, X. X., Zhang, R., Gong, X., Zhang, S., Mares, V., Gavilán, C., Posadas, A., and Quiroz, R. (2012).** Partial root-zone drying irrigation and water utilization efficiency by the potato crop in semi-arid regions in China. *Scientia Horticulturae*, 134, 20-25.
- Xu, H. L., Qin, F., Xu, Q., Tan, J., and Liu, G. (2011).** Applications of xerophytophysiology in plant production—The potato crop improved by partial root zone drying of early season but not whole season. *Scientia Horticulturae*, 129(4), 528-534.
- Yactayo, W., Ramírez, D. A., Gutiérrez, R., Mares, V., Posadas, A., and Quiroz, R. (2013).** Effect of partial root-zone drying irrigation timing on potato tuber yield and water use efficiency. *Agricultural Water Management*, 123, 65-70.
- Yan, F., Sun, Y., Song, F., and Liu, F. (2012).** Differential responses of stomatal morphology to partial root-zone drying and deficit irrigation in potato leaves under varied nitrogen rates. *Scientia Horticulturae*, 145, 76-83.
- Yin, X. (2013).** Improving ecophysiological simulation models to predict the impact of elevated atmospheric CO₂ concentration on crop productivity. *Annals of Botany*, 112(3), 465-475.
- Yuan, B. Z., Nishiyama, S., and Kang, Y. (2003).** Effects of different irrigation regimes on the growth and yield of drip-irrigated potato. *Agricultural Water Management*, 63(3), 153-167.

EFFECTOS DE LAS HELADAS EN EL CULTIVO DE PAPA, Y DESAFÍOS DEL MEJORAMIENTO GENÉTICO

María Teresa Pino
Tony H.H. Chen

EL CULTIVO DE PAPA ES SIGNIFICATIVAMENTE AFECTADO POR PROBLEMAS DE HELADAS

La incidencia de las heladas tiene impactos significativos en la producción agrícola a nivel mundial. No sólo causa pérdidas en los rendimientos de la mayoría de los cultivos agrícolas, también limita su distribución geográfica. El cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) es significativamente afectado por heladas. La mayoría de las variedades cultivadas son sensibles a temperaturas inferiores a -2.5°C , a esta temperatura se observan daños visibles a nivel foliar y mermas tanto en los rendimientos como en la calidad de los tubérculos (Chen y Li, 1980). Mientras, en zonas de clima templado las heladas pueden afectar el cultivo de papa en primavera e inicios del otoño, en regiones andinas de América del Sur las heladas pueden ocurrir en cualquier etapa del desarrollo del cultivo, disminuyendo así los rendimientos en diferentes intensidades. Fairlie y Ortega (1995), mostraron que en el sur de Puno (Perú), las heladas entre emergencia y formación de estolones bajaron los rendimientos entre 30 y 50%, y las heladas en floración afectaron el rendimiento en 50%. Hijmans (1999), estimó que cerca del 25% del área total plantada con papa en el altiplano tiene alto riesgo de heladas ($>33\%$). Un estudio reciente en Korea mostró que plantas de papas afectadas con daño severo por helada ($>75\%$ daño visual) alcanzaron un rendimiento de 31 ton/ha, mientras que aquellas plantas que experimentaron un bajo daño por heladas ($<25\%$ daño visual) alcanzaron un rendimiento de 53 ton/ha (Chang *et al.*, 2014). En la zona mediterránea, donde la producción

de papa precoz significa altos retornos para el productor, las heladas pueden ser devastadoras en cualquier etapa del cultivo (Chen y Li, 1980; Barrientos *et al.*, 1994; Iovene *et al.*, 2004).

Además de las pérdidas en rendimientos y del daño foliar, las heladas inducen la formación de cristales de hielo a temperaturas de congelación. Se pueden formar cristales de hielo dentro del protoplasma causando el rompimiento y muerte celular, o también en los espacios extracelulares produciendo severa deshidratación celular (Palta y Li, 1980; Toivio-Kinnican *et al.*, 1981; Steponkus, 1984). Muchos de los efectos del estrés por bajas temperaturas están relacionados con la variación en la fluidez de las membranas, temperaturas bajo 0°C disminuyen la semi-permeabilidad de la membrana debido a la desnaturalización de proteínas y alteración de la composición de lipídica de la membrana (Palta y Li, 1980). Un análisis comparativo entre *S. tuberosum* (sensible a heladas) y *Solanum commersonii* Dun (tolerante a heladas con capacidad de aclimatación a bajas temperaturas) mostró diferencias en la estructura lipídica de la membrana luego de ser expuestas a bajas temperaturas, incluyendo un incremento de los ácidos grasos insaturados para aumentar su fluidez. Sugiriendo que esta capacidad sería un mecanismo de adaptación a bajas temperaturas en *S. commersonii* (Palta *et al.*, 1993).

Asimismo, bajas temperaturas pueden inducir la acumulación de especies reactivas de oxígeno ROS (por su sigla en inglés, Reactive Oxygen Species) causando daño oxidativo (Thomashow, 1999), las cuales pueden ser el resultado de fallas en la transferencia de electrones durante la fotosíntesis y/o a daños en el fotosistema II, con la consecuente disminución de la eficiencia fotosintética (Steffen y Palta, 1989; O’Kane *et al.*, 1996; McKersie *et al.*, 2000). Un estudio que comparó la actividad fotosintética entre *Solanum acaule* y *S. tuberosum* luego de un periodo de aclimatación a bajas temperaturas, encontró una correlación positiva entre la actividad fotosintética y la capacidad de aclimatación (Steffen y Palta, 1989). Además, en *S. tuberosum*, se ha observado una importante disminución de la actividad fotosintética a bajas temperaturas e incluso con daños irreversibles en el sistema fotosintético (Seppänen y Coleman, 2003).

CAPACIDAD DE ACLIMATACIÓN A BAJAS TEMPERATURAS Y FUENTES DE TOLERANCIA A HELADAS EN PAPAS

A pesar que la mayoría de las variedades cultivadas de papas son sensibles a temperaturas inferiores a -2.5°C , algunas especies silvestres tienen la capacidad de sobrevivir a heladas de -5°C e incluso incrementar su tolerancia a temperaturas tan bajas como -10°C , previo periodo de aclimatación a bajas temperaturas (Chen y Li, 1980; Costa y Li, 1992; Vega y Bamberg, 1995). Esta capacidad de aclimatación a bajas temperaturas (CA) (por su sigla en inglés, Cold Acclimation) se caracteriza por la habilidad que tienen algunas especies de incrementar la tolerancia a temperaturas aún más bajas luego de estar expuestas por un corto tiempo a temperaturas entre 0° y 4°C . En la **Tabla 10.1**, se clasifican diferentes especies de papas según su respuesta a bajas temperaturas destacando *S. acaule*, *S. commersonii*, *S. multidissectum* y *S. chomatophilum* con tolerancias entre -4.5°C a -11.5°C . Estudios posteriores de Vega *et al.* (2000), reclasificaron a *S. megistacrolobum* y *S. sanctaerosae* sugiriendo que estas especies también tendrían capacidad de CA, reportando un aumento en su tolerancia a heladas desde -3.7°C a -6.3°C y de -3.8°C a -5.6°C , respectivamente.

La capacidad de CA está asociada a cambios anatómicos, fisiológicos, bioquímicos y moleculares en plantas; entre estos últimos destaca la expresión de genes relacionados por ejemplo con la producción de enzimas claves en la vía de síntesis de osmolitos, proteínas con funciones protectoras, enzimas antioxidantes, factores de transcripción (FT) y otras proteínas involucradas en la respuesta a estrés térmico (Thomashow, 1999). Detalles de osmoprotectores y genes de respuestas a estrés por bajas temperaturas son descritos en los capítulos 3 y 4 de esta publicación. Otro de los factores responsable de la adaptación a bajas temperaturas es el incremento de los ácidos grasos insaturados en las membranas celulares a fin de mantener su fluidez (Somerville y Browse, 1991; Palta *et al.*,

Tabla 10.1. Clasificación de especies *Solanum* con capacidad de tuberización según tolerancia a heladas y capacidad de aclimatación a bajas temperaturas (adaptado de Chen y Li 1980 y Vega *et al.*, 2000*).

Categoría	Especies	LT50 (°C) Sin Aclimatación	LT50 (°C) Con Aclimatación
Tolerantes a heladas, con capacidad de aclimatación a bajas temperaturas	<i>S. acaule</i>	-6.0	-9.0
	<i>S. commersonii</i>	-4.5	-11.5
	<i>S. multidissectum</i>	-4.0	-8.5
	<i>S. chomatophilum</i>	-5.0	-8.5
Tolerantes a heladas, sin capacidad de aclimatación a bajas temperaturas	<i>S. bolviense</i>	-4.5	-4.5
Sensible a Heladas, con capacidad de aclimatación a bajas temperaturas	<i>S. oplocense</i>	-3.0	-8.0
	<i>S. polytrichon</i>	-3.0	-6.0
	<i>S. megistacrolobum*</i>	-3.7	-6.3
	<i>S. sanctae-rosae*</i>	-3.8	-5.6
Sensible a Heladas, sin capacidad de aclimatación a bajas temperaturas	<i>S. brachistotrichum</i>	-3.5	-3.5
	<i>S. cardiophyllum</i>	-3.0	-3.0
	<i>S. fendleri</i>	-3.0	-3.0
	<i>S. jamesii</i>	-3.0	-3.0
	<i>S. kurtzianum</i>	-3.5	-3.5
	<i>S. microdontum</i>	-3.0	-3.0
	<i>S. pinnatisectum</i>	-2.5	-2.5
	<i>S. stonotonum</i>	-3.5	-3.5
	<i>S. stoloniferum</i>	-3.0	-3.0
	<i>S. sucrense</i>	-3.0	-3.0
	<i>S. tuberosum</i>	-3.0	-3.0
	<i>S. venturii</i>	-3.5	-3.5
<i>S. vernei</i>	-3.5	-3.5	
<i>S. verrucosum</i>	-3.0	-3.0	

LT50: temperatura letal a la cual el 50% de las muestras mueren

1993; Wada *et al.*, 1994). A bajas temperaturas, se ha observado la síntesis de ácidos grasos insaturados vía síntesis de enzimas del tipo desaturasas para evitar la pérdida de fluidez a bajas temperaturas y la desnaturalización de las proteínas (Thomashow, 1999). Un estudio reciente que evaluó la sobre expresión del gen acyl-lipid-12-desaturasa en papas, sugirió que en conjunto con un incremento de los ácidos grasos insaturados en la membrana mejoraría la tolerancia a heladas (Amiri *et al.*, 2010). La capacidad de aclimatación a bajas temperaturas en papas también ha sido relacionada con cambios en la ultra estructura de la hoja y particularmente en la empalizada; tempranamente se observó que aquellas especies de papas más tolerantes a bajas temperaturas tenían doble empalizada, sugiriéndolo incluso como un criterio indirecto de selección (Palta y Li, 1979; Tiwari y Garg, 1982; Tiwari *et al.*, 1986). El índice de estomas también se ha propuesto como un criterio de selección en papas. Algunos estudios han reportado mayor número de estomas por área en aquellas especies más tolerantes a heladas (Palta y Li, 1979) y en híbridos de *S. commersonii* x *S. cardiophyllum* (Kleinhenz *et al.*, 1995). Similares resultados fueron reportados en un estudio que comparó la respuesta a heladas entre líneas transgénicas de *S. commersonii* (35S::AtCBF1) y su control no transgénico; las líneas transgénicas en conjunto con mostrar mayor tolerancia a heladas presentaron una empalizada más gruesa y mayor número de estomas por área que el control, ver **Figura 10.1** (Pino *et al.*, 2006). Además, en algunas especies silvestres de papas, se ha asociado la tolerancia a heladas con la presencia de pigmentos antocianos tanto en hojas como en tallos (Estrada, 1982).

MEJORAMIENTO GENÉTICO CONVENCIONAL VERSUS INGENIERÍA GENÉTICA PARA LA TOLERANCIA A HELADAS

Uno de los desafíos de los mejoradores de papas, es transferir la capacidad de algunas papas silvestres para aclimatarse a bajas temperaturas y soportar heladas inferiores a -3°C . Se han realizado varios intentos por transferir este carácter a la papa cultivada vía mejoramiento genético convencional, con resultados no muy alen-

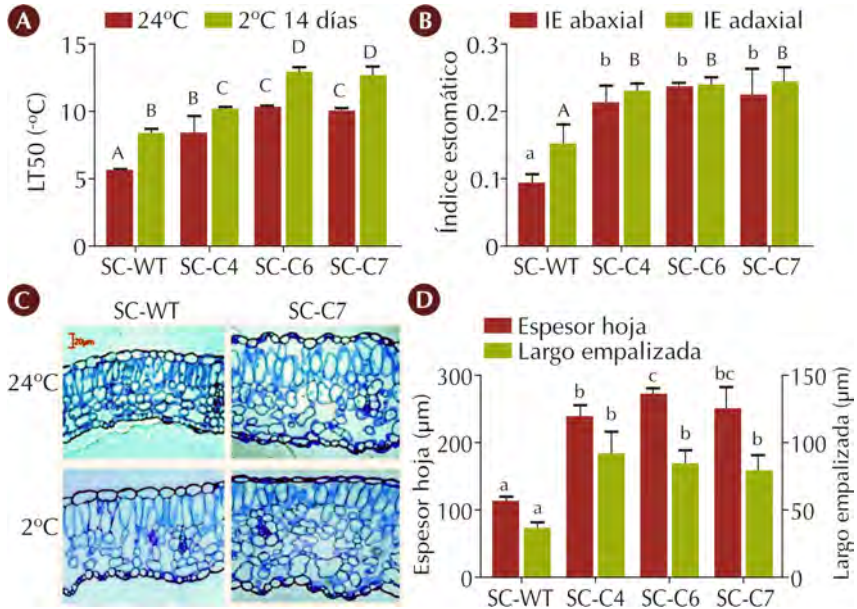


Figura 10.1. Análisis comparativo entre *Solanum commersonii* Dun (SC-WT) y tres líneas transgénicas de *S. commersonii* transformadas con 35S: AtCBF1 (SC-C4, SC-C6, SC-C7). **A**) LT50 temperatura letal en plantas sin aclimatación (24°C) y luego de dos semanas en aclimatación a 2°C. **B**) Índice estomático (IE) en la cara abaxial y cara adaxial de la hoja. **C**) Corte transversal de la hoja (200X) sin aclimatación (24°C) y luego de dos semanas en aclimatación a 2°C. **D**) Espesor de la hoja y largo de las células empalizadas (Adaptado de Pino *et al.*, 2006).

tadores; básicamente porque la mayoría de las papas silvestres son sexualmente incompatibles con la papa cultivada y además porque la tolerancia a heladas está regulada por varios genes. Como estrategia se ha recurrido a la fusión de protoplastos, al rescate de embriones, y al uso de especies puentes para superar las barreras naturales propias de cruzamientos inter-específicos. Sin embargo, se ha observado que “the linkage drag”, limita la introgresión de genes desde papas silvestres a la cultivada porque muchos caracteres exóticos e indeseables pueden ser transmitidos en conjunto con la tolerancia a heladas, tales como alto contenido de alcaloides y largos estolones (Estrada *et al.*,

1993). Algunos ejemplos de cruzamientos inter específicos entre *S. tuberosum* x *S. commersonii* son los estudios de Cardi *et al.* (1993a, b) y de Nyman y Waara (1997). En ambos estudios, la mayoría de los híbridos mostraron un fenotipo similar a *S. tuberosum*, mayor vigor y mejoraron su capacidad de CA en diferentes grados. Sin embargo, varios de ellos fueron más sensibles a bajas temperaturas que *S. tuberosum*, mostrando además clorosis foliar. Asimismo, la mayoría de estos híbridos mostraron macho esterilidad limitando su uso en los programas de mejoramiento genético (Cardi *et al.*, 1993a; Nyman y Waara, 1997). Otro estudio en cruzamientos inter específicos entre *S. commersonii* y *S. tuberosum*, mostró que el F1 (triploide), presentó tolerancia a heladas y capacidad de CA similar a *S. commersonii*, pero con algunas pérdidas en las características agronómicas de *S. tuberosum*. Sin embargo, el seguimiento de los genotipos BC1 (pentaploide) y BC2 (tetraploide o cercano) mostró menor tolerancia a heladas que el F1 (Carputo *et al.*, 2000). Otro estudio entre híbridos *S. commersonii* (5X) y *S. tuberosum* (4X), mostró que los valores LT50 de los híbridos fluctuaron entre ambos padres, y sólo algunos de ellos mejoraron su tolerancia a heladas, superando los -3°C (Iovene *et al.*, 2004). En otro estudio, la incorporación del citoplasma de *S. commersonii* no mejoró la tolerancia a heladas en papas sensibles a heladas como *S. brachistotrichum*, *S. cardiophyllum*, y *S. Pinnatisectum* (Bamberg *et al.*, 2005). Por otra parte, un estudio tendiente a construir un mapa parcial de ligamiento entre cruzamientos de *S. commersonii* y *S. cardiophyllum*, indicó que la tolerancia a heladas y la capacidad de CA están bajo control genético independiente (Vega *et al.*, 2003).

El mejoramiento convencional para incrementar la tolerancia a heladas y transmitir la capacidad de CA entre papas silvestres y cultivadas, además de las limitantes antes mencionada, requiere considerable tiempo en retrocruzas, en evaluaciones y en selección fenotípica (Pavek y Corsini, 2001; Iovene *et al.*, 2004). Sin embargo, el uso de herramientas biotecnológicas modernas como la ingeniería genética y la genómica, prometen acelerar este proceso. Los marcadores moleculares han sido una herramienta útil para alcanzar algunos objetivos del mejoramiento genético, permiten realizar un tipo de

selección asistida a través de la relación de la variabilidad genotípica y fenotípica, acelerando el proceso de selección. Entre los principales marcadores moleculares están los del tipo AFLPs (polimorfismo en el largo de los fragmentos amplificados), RFLPs (polimorfismo en el largo de los fragmentos de restricción) y microsatélites (SSRs) entre otros, los cuales han sido muy efectivos en la identificación de genes que controlan características simples, asociadas a uno o pocos genes. También destacan los marcadores del tipo SNPs (polimorfismos en una sola base), que se caracterizan por su abundancia en el genoma. Sin embargo, su identificación y evaluación fue inicialmente limitada por su alto costo. En los últimos años, la secuenciación a gran escala, así como la aplicación de la técnica de genotipado mediante secuenciación de nueva generación o GBS (por su sigla en inglés, Genotyping by Sequencing) permite genotipar un gran número de individuos mediante secuenciación masiva a bajo costo, obteniendo marcadores (SNPs de alta calidad) representativos por todo el genoma. Esta técnica permitirá genotipar las diferentes generaciones obtenidas (F1, F2..., Fn), en los programas de mejoramiento genético en forma efectiva. Por otra parte, estudios de Asociación del Genoma Completo o GWAS (por su sigla en inglés, Genome Wide Association Studies), permite realizar un análisis de asociación entre los SNPs y caracteres o rasgos de interés como la productividad, la calidad, y tolerancia a estrés abiótico, entre otros (Elshire *et al.*, 2011; Davey *et al.*, 2011). Herramientas como estas, unida a la selección genómica (SG), prometen acelerar la obtención de variedades tolerantes a estrés abiótico.

Respecto a los genes asociados a la tolerancia a heladas, el uso de la transgenia ha permitido introgresar algunos de estos genes a papa cultivada con resultados variables (ver Capítulo 4 y Tabla 4.1). Uno de los primeros intentos fue la transformación genética del cultivar Russet Burbank con un gen sintético AFP (por su sigla en inglés, Antifreezing Protein). Los resultados mostraron en las líneas transgénicas menor pérdida de electrolitos y mayor tolerancia a heladas con un LT50 entre -3.0°C a -3.5°C (Wallis *et al.*, 1997). Luego, el cultivar Desireé fue transformado con un gen de levadura del tipo invertasa (INVase) bajo el control del promotor B33

Patatín, las líneas transgénicas mostraron mejor comportamiento a bajas temperaturas debido a cambios en la relación de azúcares solubles (Deryabin *et al.*, 2003). El cultivar Desireé también ha sido transformado con el gen desaturasa ($\omega 9$) con el objeto de producir cambios en la conformación lipídica de la membrana e inducir tolerancia a heladas (De Palma *et al.*, 2008). Estudios en el cultivar Desnitsa, usando como transgen el gen delta12-desaturasa (desA) proveniente de una cianobacteria y bajo un promotor constitutivo, mostraron un incremento en la tolerancia a heladas debido a un aumento de los ácidos grasos insaturados (Maali-Amiri *et al.*, 2007; Demin *et al.*, 2008; Amiri *et al.*, 2010). Algunos cultivares de papas también han sido transformados con FT del tipo DREB/CBF (DREB1b/AtCBF1, DREB1c/AtCBF2, DREB1a/AtCBF3). Estudios en el cultivar Umatilla mostraron que la expresión de los FTs, AtCBF1 y AtCBF3, bajo control de un promotor inducible rd29A, mejoró la tolerancia a heladas sin causar efectos negativos en el fenotipo de la planta, mientras que la expresión de AtCBF1 y AtCBF3 bajo control de un promotor constitutivo mejoró la tolerancia a heladas, pero alteró el fenotipo de la mayoría de las líneas transgénicas (Pino *et al.*, 2007; Pino *et al.*, 2008). El efecto de estos FT fue ratificado en el cultivar Desireé; el gen DREB1a/AtCBF3 bajo control del promotor inducible (rd29A), mostró consecuentemente mayor tolerancia a heladas en plantas *in vitro* (Behnam *et al.*, 2007). También la expresión constitutiva del gen DREB1b/AtCBF1 en el cv Desireé mejoró la tasa de sobrevivencia en plantas (en macetas) sometidas a -6°C durante 0, 15, 30 y 45 horas (Movahedi *et al.*, 2012).

HERRAMIENTAS PARA EVALUAR EL DAÑO POR HELADAS EN PAPAS

Los métodos para evaluar respuestas a heladas se resumen en la **Tabla 10.2**. Pueden existir algunas variaciones respecto a otros cultivos en el tratamiento de aclimatación, en la tasa de enfriamiento por hora, y en las temperaturas mínimas evaluadas; porque no todas las especies responden a CA ni muestran el mismo grado de tolerancia a heladas. Uno de los métodos más utilizado, y citado en papas, es aquel que

Tabla 10.2. Análisis comparativo entre distintos métodos para evaluar daños por heladas en papas.

Método	Aclimatación	Descripción	Evaluaciones	Equipamiento
Helada directa en campo.	Natural.	Se realiza en el campo y depende del clima y de la ocurrencia heladas	<ul style="list-style-type: none"> - Daño visual de la hoja 5 días post helada (ver Figura 10.2). - Porcentaje de plantas muertas. - Porcentaje de plantas recuperadas post-helada. - Rendimiento/planta. 	<ul style="list-style-type: none"> - Termómetro de suelo con dataloggers - Estación meteorológica.
Heladas simuladas en cámara de crecimiento controlada.	2°C durante dos semanas en cámara de crecimiento.	Se realiza en plantas contenidas en macetas. Post aclimatación, las plantas se someten a una tasa de enfriamiento de -1,0°C por hora.	<ul style="list-style-type: none"> - Daño visual de la hoja 5 días post helada (ver figura 10.2). - Porcentaje de plantas muertas. - Porcentajes de plantas recuperadas post-helada. - Rendimiento/planta 	<ul style="list-style-type: none"> - Cámara simulación de heladas y cámara de aclimatación. - Fitotrones.
Termo estabilidad de la membrana, (Ion leakage Test).	2°C durante dos semanas en cámara de crecimiento.	Se realiza en plantas contenidas en macetas. Post aclimatación, discos de hojas se someten a una tasa de enfriamiento de -1,0°C por hora.	<ul style="list-style-type: none"> - LT50, temperatura al cual se produce un 50% de rompimiento de las células por bajas temperaturas. - % Pérdida de electrolitos. 	<ul style="list-style-type: none"> - Cámara de aclimatación. - Baños refrigerados con circulación y control digital de temperaturas. - Conductivímetro.
Clorofila fluorescente.	Natural o a 2°C durante dos semanas en cámara de crecimiento.	Método indirecto post heladas, se evalúa en hojas expandidas y fisiológicamente activas.	Índice rendimiento cuántico máximo del PSII (Fv/Fm).	Fluorómetro.

evalúa la termo estabilidad de la membrana o pérdida de electrolitos a temperaturas de congelamiento. Este es un método no destructivo validado hace varios años que evalúa hojas expandidas y fisiológicamente activas, según lo descrito por Sukumaran y Weiser (1972). Básicamente, se cortan discos de hojas previamente lavadas en agua desionizada, se colocan en tubos de ensayos e incuban a -1°C durante 60 minutos en un baño termo-regulado. Luego, se agregan pequeñas piezas de hielo a cada tubo para asegurar la formación de cristales de hielo y se incuban a -1.5°C durante 60 minutos. Posteriormente, la temperatura se va disminuyendo a una tasa de $-1,0^{\circ}\text{C}$ por hora y los tubos se retiran según las temperaturas en evaluación. Finalmente, los discos de hojas se agitan con agua desionizada durante una hora para extraer los electrolitos liberados producto del daño por congelamiento y se mide la conductividad eléctrica inicial (EC1). Luego, de toda una noche a 4°C , se incuban durante 15 min a una temperatura de 100°C ; para extraer todos los electrolitos liberados y se mide la conductividad eléctrica final (EC2). El porcentaje de electrolitos se calcula con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Electrolitos} = \frac{EC1}{EC2} \times 100$$

Otros métodos utilizados para evaluar el efecto de las heladas en el cultivo de papa, es la evaluación del daño directo causado por heladas ocurridas en campo y por heladas simuladas en cámara de crecimiento controlada. Ambos son métodos destructivos que permiten evaluar; daño visual del follaje a los 5 días post helada (ver escala en **Figura 10.2**), porcentaje de plantas muertas, porcentajes de plantas recuperadas pos-helada y el rendimiento por planta (Chang *et al.*, 2014). La principal desventaja, de la evaluación directa en campo es que depende del clima, de la ocurrencia de la helada y no permite controlar la intensidad de la helada. Por otra parte, la principal desventaja de la evaluación de heladas simuladas en cámara de crecimiento controlada, es la necesidad de infra-estructura, alto costo y el bajo número de plantas que se puede evaluar por experimento.

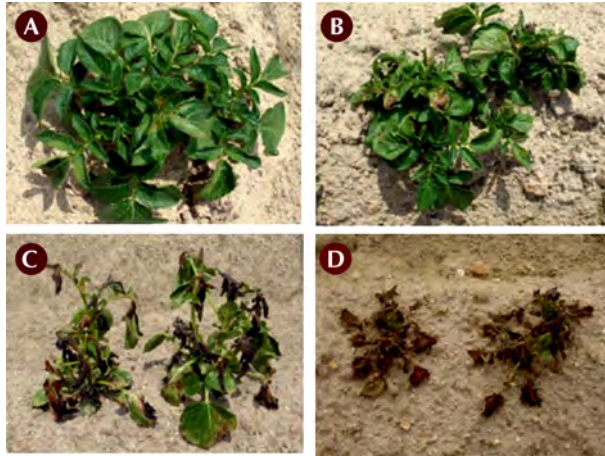


Figura 10.2. Escala de daño en plantas de papas afectadas por heladas 40 días después de la plantación. **A)** sin daño o muy bajo. **B)** daño bajo (<25%). **C)** daño moderado (50%). **D)** daño severo (>75%). El daño fue registrado cinco días después de ocurrida la helada según el porcentaje de área foliar dañada (Chang *et al.*, 2014).

Entre los métodos indirectos no destructivos, el más utilizado es la medición del rendimiento cuántico máximo del PSII (F_v/F_m) mediante un fluorómetro. Básicamente, en post aclimatación y/o helada, las hojas son sometidas a oscuridad durante 10-30 minutos y se miden algunos parámetros de fluorescencia de clorofilas. Entre el más reportado en respuesta a bajas temperaturas está F_v/F_m , que indica el porcentaje de centros de reacción funcionales del PSII. Su disminución indicaría pérdida de la función fotosintética y valores inferiores a 0.800 indicarían estrés (Steffen y Palta, 1989; O’Kane *et al.*, 1996; McKersie *et al.*, 2000).

LITERATURA CONSULTADA

- Amiri, R. M., Yur'eva, N. O., Shimshilashvili, K. R., Goldenkova-Pavlova, I. V., Pchelkin, V. P., Kuznitsova, E. I., Tsydendambaev, V. D., Trunova, T. I., Los, D. A., Jouzani, G. S., and Nosov, A. M. (2010).** Expression of Acyl-lipid Δ 12-desaturase Gene in Prokaryotic and Eukaryotic Cells and Its Effect on Cold Stress Tolerance of Potato. *Journal of Integrative Plant Biology*, 52(3), 289-297.
- Bamberg, J. B., Palta, J. P., and Vega, S. E. (2005).** *Solanum commersonii* cytoplasm does not improve freezing tolerance in substitution backcross hybrids with frost-sensitive potato species. *American Journal of Potato Research*, 82(3), 251-254.
- Barrientos, M., Mol, E., Peruzzo, G., Contreras, A., and Alberdi, M. (1994).** Responses to cold of Chilean wild *Solanum* species. *Environmental and Experimental Botany*, 34(1), 47-54.
- Behnam, B., Kikuchi, A., Celebi-Toprak, F., Kasuga, M., Yamaguchi-Shinozaki, K., and Watanabe, K. N. (2007).** Arabidopsis rd29A::DREB1A enhances freezing tolerance in transgenic potato. *Plant Cell Reports*, 26(8), 1275-1282.
- Cardi, T., Puite, K. J., Ramulu, K. S., D'Ambrosio, F., and Frusciante, L. (1993a).** Production of somatic hybrids between frost tolerant *Solanum commersonii* and *S. tuberosum*: Protoplast fusion, regeneration and isozyme analysis. *American Potato Journal*, 70(11), 753-764.
- Cardi, T., D'Ambrosio, E., Consoli, D., Puite, K. J., and Ramulu, K. S. (1993b).** Production of somatic hybrids between frost-tolerant *Solanum commersonii* and *S. tuberosum*: characterization of hybrid plants. *Theoretical and Applied Genetics*, 87(1-2), 193-200.

- Carputo, D., Cardi, T., Palta, J. P., Sirianni, P., Vega, S., and Frusciante, L. (2000).** Tolerance to low temperatures and tuber soft rot in hybrids between *Solanum commersonii* and *Solanum tuberosum* obtained through manipulation of ploidy and endosperm balance number (EBN). *Plant Breeding*, 119(2), 127-130. doi: 10.1046/j.1439-0523.2000.00477.x
- Chang, D. C., Sohn, H. B., Cho, J. H., Im, J. S., Jin, Y. I., Do, G. R., Kim, S.J., Cho, H.M., and Lee, Y. B. (2014).** Freezing and Frost Damage of Potato Plants: a Case Study on Growth Recovery, Yield Response, and Quality Changes. *Potato Research*, 57(2), 99-110.
- Chen, T.H. H., and Li, P. H. (1980).** Characteristics of cold acclimation and deacclimation in tuber-bearing *Solanum* species. *Plant Physiology*, 65(6), 1146-1148.
- Costa, A., and Li, P. H. (1992).** Development of cold hardiness in *Solanum tuberosum* by abscisic acid and mefluidide. In: *Advances in Plant Hardiness*. Li, P.H. and Christersson, L. (Eds). CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, 139-140.
- Davey, J. W., Hohenlohe, P. a, Etter, P. D., Boone, J. Q., Catchen, J. M., and Blaxter, M. L. (2011).** Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nature Reviews. Genetics*, 12(7), 499-510.
- Demin, I. N., Deryabin, A. N., Sinkevich, M. S., and Trunova, T. I. (2008).** Insertion of cyanobacterial desA gene coding for $\Delta 12$ -acyl-lipid desaturase increases potato plant resistance to oxidative stress induced by hypothermia. *Russian Journal of Plant Physiology*, 55(5), 639-648.
- De Palma, M., Grillo, S., Massarelli, I., Costa, A., Balogh, G., Vigh, L., and Leone, A. (2008).** Regulation of desaturase gene expression, changes in membrane lipid composition and freezing tolerance in potato plants. *Molecular Breeding*, 21(1), 15-26.

- Deryabin, A. N., Trunova, T. I., Dubinina, I. M., Burakhanova, E. A., Sabel'nikova, E. P., Krylova, E. M., and Romanov, G. A. (2003).** Chilling tolerance of potato plants transformed with a yeast-derived invertase gene under the control of the B33 patatin promoter. *Russian Journal of Plant Physiology*, 50(4), 449-454.
- Elshire, R. J., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Poland, J. a, Kawamoto, K., Buckler, E. S., and Mitchell, S. E. (2011).** A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS one*, 6(5), e19379.
- Estrada, N. (1982).** Breeding wild and primitive potato species to obtain frost resistant cultivated varieties. *In: Plant Hardiness and Freezing Stress. Mechanism and Crop Implications*. Li, P.H. and Sakai, A. (Eds). Academic Press, New York, 615-633.
- Estrada, N., Garcia, W., Carrasco, I., and Carrasco. E. (1993).** Breeding potato for tolerance to frost and resistance to late blight. *American Potato Journal*, 70, 809-810.
- Fairlie, T. E., and Ortega, A. (1995).** Efecto de la presencia de heladas simuladas en diferentes estados fenológicos y su impacto en el rendimiento de la papa cv Ccompis: estudio preliminar. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 7(8), 86-93.
- Hijmans, R. J. (1999).** Estimating frost risk in potato production on the Altiplano using interpolated climate data. *CIP Program Report*, 1998, 373-380.
- Iovene, M., Barone, A., Frusciante, L., Monti, L., and Carputo, D. (2004).** Selection for aneuploid potato hybrids combining a low wild genome content and resistance traits from *Solanum comersonii*. *Theoretical and Applied Genetics*, 109(6), 1139-1146.

- Kleinhenz, M. D., Bamberg, J. B., and Palta, J. P. (1995).** Use of stomatal index as a marker to screen backcross populations of two wild potato species segregating for freezing tolerance. *American Potato Journal*, 72(4), 243-250.
- McKersie, B. D., Murnaghan, J., Jones, K. S., and Bowley, S. R. (2000).** Iron-superoxide dismutase expression in transgenic alfalfa increases winter survival without a detectable increase in photosynthetic oxidative stress tolerance. *Plant Physiology*, 122(4), 1427-1438.
- Maali-Amiri, R., Goldenkova-Pavlova, I. V., Yur'Eva, N. O., Pchelkin, V. P., Tsydendambaev, V. D., Vereshchagin, A. G., Der-yabin, A.N., Trunova, T.I., Los D.A., and Nosov, A. M. (2007).** Lipid fatty acid composition of potato plants transformed with the $\Delta 12$ -desaturase gene from cyanobacterium. *Russian Journal of Plant Physiology*, 54(5), 600-606.
- Movahedi, S., Tabatabaei, B. S., Alizade, H., Ghobadi, C., Yamchi, A., and Khaksar, G. (2012).** Constitutive expression of Arabidopsis DREB1B in transgenic potato enhances drought and freezing tolerance. *Biologia Plantarum*, 56(1), 37-42.
- Nyman, M., and Waara, S. (1997).** Characterisation of somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and its frost-tolerant relative *Solanum commersonii*. *Theoretical and Applied Genetics*, 95(7), 1127-1132.
- O'Kane, D., Gill, V., Boyd, P., and Burdon, R. (1996).** Chilling, oxidative stress and antioxidant responses in *Arabidopsis thaliana* callus. *Planta*, 198(3), 371-377.
- Palta, J. P., and Li, P. H. (1979).** Frost-hardiness in relation to leaf anatomy and natural distribution of several *Solanum* species. *Crop Science*, 19(5), 665-671.

- Palta, J. P., and Li, P. H. (1980).** Alterations in membrane transport properties by freezing injury in herbaceous plants: Evidence against rupture theory. *Physiologia Plantarum*, 50(2), 169-175.
- Palta, J. P., Whitaker, B. D., and Weiss, L. S. (1993).** Plasma membrane lipids associated with genetic variability in freezing tolerance and cold acclimation of *Solanum* species. *Plant Physiology*, 103(3), 793-803
- Pavek, J. J., and Corsini, D. L. (2001).** Utilization of potato genetic resources in variety development. *American Journal of Potato Research*, 78(6), 433-441.
- Pino, M.T., Skinner, J.S., Jeknic, Z., Park, E.J., Hayes, P.M., and Chen, T.H.H. (2006).** Ectopic Overexpression of AtCBF1 in Potato Enhances Freezing Tolerance. *In: Cold Hardiness in Plants: Molecular Genetics, Cell Biology, and Physiology*. Chen, T.H.H., Uemura M., and Fujikawa, S. (Eds.). ISBN 0-851-99059-2 CAB International, Oxon, UK, 103- 123.
- Pino, M. T., Skinner, J. S., Park, E. J., Jeknic, Z., Hayes, P. M., Thomashow, M. F., and Chen, T. H. H. (2007).** Use of a stress inducible promoter to drive ectopic AtCBF expression improves potato freezing tolerance while minimizing negative effects on tuber yield. *Plant Biotechnology Journal*, 5(5), 591-604.
- Pino, M. T., Skinner, J. S., Jeknic, Z., Hayes, P. M., Soeldner, A. H., Thomashow, M. F., and Chen, T.H.H. (2008).** Ectopic AtCBF1 over-expression enhances freezing tolerance and induces cold acclimation-associated physiological modifications in potato. *Plant, Cell and Environment*, 31(4), 393-406.
- Seppänen, M. M., and Coleman, G. D. (2003).** Characterization of genotypic variation in stress gene expression and photosynthetic parameters in potato. *Plant, Cell and Environment*, 26(3), 401-410.

- Somerville, C., and Browse, J. (1991).** Plant lipids: metabolism, mutants, and membranes. *Science*, 252(5002), 80-87.
- Steffen, K. L., and Palta, J. P. (1989).** Light stress following a frost episode influences the frost tolerance of a wild potato species. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 114, 656-661.
- Steponkus, P. L. (1984).** Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation. *Annual Review of Plant Physiology*, 35(1), 543-584.
- Sukumaran, N.P., and Weiser, C.J. (1972).** An excised leaflet test for evaluating potato frost tolerance. *HortScience*, 7, 467-468.
- Thomashow, M. F. (1999).** Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. *Annual Review of Plant Biology*, 50(1), 571-599.
- Tiwari, S. P., and Garg, K. C. (1982).** Inheritance of frost resistance in potato. *Current Science*, 51, 249-251.
- Tiwari, S. P., Sukumaran, N. P., and Khushu, C. L. (1986).** Path-Coefficient Analysis of Leaf-Anatomical Characters Affecting Frost Injury in Potato. *Plant Breeding*, 97(3), 272-274.
- Toivio-Kinnucan, M. A., Chen, H. H., Li, P. H., and Stushnoff, C. (1981).** Plasma membrane alterations in callus tissues of tuber-bearing *Solanum* species during cold acclimation. *Plant Physiology*, 67(3), 478-483.
- Vega, S. E., and Bamberg, J. B. (1995).** Screening the US potato collection for frost hardiness. *American Potato Journal*, 72(1), 13-21.
- Vega, S. E., Palta, J. P., and Bamberg, J. B. (2000).** Variability in the rate of cold acclimation and deacclimation among tuber-bearing *Solanum* (potato) species. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 125(2), 205-211.

- Vega, S.E., Alfonso, H., Jung, G., Bamberg, J. B., and Palta, J. P. (2003).** Marker-assisted genetic analysis of non-acclimated freezing tolerance and cold acclimation capacity in a backcross *Solanum* population. *American Journal of Potato Research*, 80(6), 359-369.
- Wada, H., Gombos, Z., and Murata, N. (1994).** Contribution of membrane lipids to the ability of the photosynthetic machinery to tolerate temperature stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(10), 4273-4277.
- Wallis, J. G., Wang, H., and Guerra, D. J. (1997).** Expression of a synthetic antifreeze protein in potato reduces electrolyte release at freezing temperatures. *Plant Molecular Biology*, 35(3), 323-330.