

# TERMOESTABILIDAD DE LA MEMBRANA Y TOLERANCIA A CALOR EN VARIEDADES DE *Saccharum* spp.

## HEAT STABILITY OF THE MEMBRANE AND HEAT TOLERANCE IN VARIETIES OF *Saccharum* spp.

Castro-Nava, S.<sup>1\*</sup>; Mireles-Rodríguez, E.<sup>2</sup>; García-Girón, J.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Tamaulipas, Facultad de Ingeniería y Ciencias. Centro Universitario Victoria, Cd. Victoria, Tam. México. 87149. <sup>2</sup>Universidad Autónoma de Tamaulipas, Unidad Académica Multidisciplinaria Mante-Centro. Cd. Mante, Tam. México. 89880.

\*Autor de correspondencia: scastro@docentes.uat.edu.mx

---

### RESUMEN

Se evaluó la tolerancia al calor de cuatro variedades de caña de azúcar (Mex 68-1345, Mex 68-P-23, CP 72-2086 y Mex 79-431) en su ciclo de planta bajo condiciones de temporal, mediante la prueba de termo-estabilidad de la membrana celular. El porcentaje relativo del daño a la membrana celular (DMC%) se utilizó como indicador de la tolerancia al calor. Las variedades mostraron respuestas diferenciales, siendo más tolerante al calor las Mex 68-1345 y CP 72-2086, en función de que el porcentaje relativo del daño a la membrana celular fue más bajo, además de un potencial hídrico alto durante las horas de calor, principalmente de Mex 68-1345 y buena capacidad de recuperación en base a la temperatura foliar durante la tarde alcanzando la temperatura más baja de todas las variedades.

**Palabras clave:** Calor, estabilidad térmica, tolerancia, caña de azúcar

### ABSTRACT

The heat tolerance of four varieties of sugar cane (Mex 68-1345, Mex 68-P-23, CP 72-2086 and Mex 79-431) was evaluated in the plant cycle under rainfed conditions, through the heat stability test of the cell membrane. The relative percentage of the damage to the cell membrane (DCM %) was used as indicator of heat tolerance. The varieties showed differential responses, with Mex 68-1345 and CP 72-2086 being more tolerant to heat, in function of the relative percentage of the damage to the cell membrane being lower, in addition to a high water potential during the hours of heat, primarily of Mex 68-1345, and good capacity for recovery based on the leaf temperature during the afternoon, reaching the lowest temperature of all the varieties.

**Keywords:** heat, heat stability, tolerance, sugar cane.

## INTRODUCCIÓN

**La caña** de azúcar (*Saccharum* spp.) es un cultivo importante para la producción de azúcar, y uno de los convertidores cuánticos más eficientes por su gran capacidad de amacollamiento y producción de biomasa y bioenergía (Shrivastava *et al.*, 2015). En México se cultiva en 828,609.15 hectáreas que producen 56,7 millones de toneladas, con una productividad de 74,4 t ha<sup>-1</sup> (SIAP, 2015); casi 58% se cultiva en condiciones de secano, donde la precipitación es insuficiente y con periodos de estrés por calor y sequía. Un estrés por calor es definido como aumento de temperatura más allá de los límites óptimos que causa daño irreversible y limita en gran medida el crecimiento y el rendimiento de las plantas cultivadas cuando se produce transitoriamente o continuamente (Wahid, 2007). Estas ocurrencias serán características importantes del clima en el futuro (Djanaguiraman *et al.*, 2011) ya que se predice que las temperaturas superficiales globales seguirán aumentando (IPCC, 2007). El efecto del calor o temperatura alta sobre el metabolismo de la planta depende de la intensidad y la duración de temperaturas supra-óptima en combinación con la tasa de aumento de temperatura (Wahid *et al.*, 2007). Puede modificar la función, composición y estructura de la membrana celular (Wang *et al.*, 2003; Rahman *et al.*, 2004; Barnabás *et al.*, 2008). La ruptura y daño de la membrana celular ocasiona la pérdida de electrolitos (aminoácidos, ácidos orgánicos, proteínas y otros solutos). Esta pérdida es una medida del daño ocasionado a la membrana celular, y por lo tanto es un factor importante en la tolerancia al calor (McDaniel, 1982). Sullivan (1972) desarrolló una prueba para medir la tolerancia al calor, la cual determina la termoestabilidad de la membrana celular a través de la medición de la cantidad de electrolitos perdidos en discos de hojas, después de una exposición a un tratamiento de calor (>40 °C). Esta prueba se ha usado en cultivos como soja (*Glycine max* L.: Martineau *et al.*, 1979); trigo (*Triticum aestivum* L.: Fokar *et al.*, 1998, Blum *et al.*, 2001); chícharo (*Vigna unguiculata* L.: Thiaw y Hall, 2004); algodón (*Gossypium hirsutum* L.: Rahman *et al.*, 2004); maíz (*Zea mays* L.: Castro *et al.*, 2012); sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench: Sullivan y Ross, 1979) y caña de azúcar (*Saccharum* spp.: Sudhakar *et al.*, 2010, Gomathi *et al.*, 2013); sin embargo su efecto depende del nivel de temperatura utilizada en la prueba, la especie y etapa fenológica (Castro, 2013). Los resultados obtenidos por la pérdida de electrolitos puede ser un criterio de selección indirecto para la tolerancia al calor

(Blum *et al.*, 2001; Rahman *et al.*, 2004; Thiaw y Hall, 2004), aunque su efectividad dependerá de la magnitud de la variabilidad genética en una población. La identificación de genotipos que tienen gran capacidad de utilizar agua limitada y tolerancia a temperaturas altas, es por lo tanto importante para mejorar la productividad de los cultivos. En el contexto anterior, se determinó la respuesta al estrés por calor de cuatro de las variedades comerciales de caña de azúcar con mayor superficie cultivada en México mediante la aplicación de la prueba de termo-estabilidad de la membrana celular.

## MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron cuatro variedades comerciales de caña de azúcar (Mex 68-1345, Mex 68-P-23, CP 72-2086 y Mex 79-431), en un lote comercial ubicado en el municipio de Cd. Ocampo, Tamaulipas, México. Las cuatro variedades cubren aproximadamente 46% de la superficie sembrada en México (Salgado *et al.*, 2013). Se evaluaron en condiciones de campo mediante la prueba de termo estabilidad de la membrana celular (TMC) para establecer su tolerancia a la temperatura alta. Se utilizaron lotes de ciclo planta, establecidos durante la zafra 2012-2013 en condiciones de temporal de acuerdo a la tecnología agronómica de la región. Cuando las plántulas se encontraban en la sexta hoja ligulada de su desarrollo, se midió la tolerancia a calor (daño a la membrana celular) mediante la prueba de termo estabilidad de la membrana celular (TMC) siguiendo el procedimiento descrito por Sullivan (1972). Para minimizar el error experimental al momento del muestreo por edad y posición de la hoja (Bajji *et al.*, 2001), se tomaron 20 discos de tejido foliar de la hoja madura más joven en cada una de las plantas. Los discos fueron extraídos con un sacabocados de 10 mm de diámetro, entre las 12:00 y las 14:00 horas, y colocadas inmediatamente en tubos de ensayo conteniendo 10 ml de agua deionizada. Los discos de tejido de hoja se lavaron tres veces en agua deionizada para eliminar los electrolitos liberados al momento del corte. Se hicieron dos grupos de 10 discos de tejido de hoja con cinco repeticiones, un grupo para el control y el otro para el tratamiento de calor. Después del lavado se agregaron 10 ml de agua deionizada a cada tubo y se cubrieron con papel aluminio para evitar la desecación y evaporación durante el tratamiento de calor, el cual se hizo en un baño maría manteniendo el control a una temperatura de 50 °C ± 1 °C por una hora. El grupo de discos control se mantuvo a una temperatura ambiente de 25 °C por el mismo período de tiempo. Terminado el tratamiento

de temperatura se agregaron 10 ml de agua deionizada y se dejó reposar en un refrigerador a 10 °C por 24 h para permitir la difusión de electrolitos. Después de esto, se extrajeron del refrigerador y las muestras se dejaron reposar a temperatura ambiente por 1 h a 25 °C, e hicieron lecturas de conductividad eléctrica (CE) con un digital conductivity meter (VWR modelo CRB-10M con compensación de temperatura automática). Los tubos de ensayo se introdujeron en una autoclave (Felisa Modelo FE-399; Zapopan, Jalisco, México) a 120 °C durante 10 min a una presión de 0.10 MPa para liberar todos los electrolitos. Se dejó reposar el tejido a 25 °C durante 1 h y se realizó la segunda lectura de la CE. El porcentaje relativo del daño a la membrana celular (DMC%), como indicador de la termo estabilidad de la membrana celular (TMC) se calculó como:

$$DMC = [1 - (T_1 / T_2)] / [1 - (C_1 / C_2)] \times 100$$

donde DMC=daño a la membrana celular;  $T_1$ =tratamiento antes de introducirse a la autoclave;  $T_2$ =tratamiento después de haberse introducido a la autoclave;  $C_1$ =testigo antes de introducirse a la autoclave;  $C_2$ =testigo después de haberse introducido a la autoclave. De manera complementaria se evaluó el potencial hídrico ( $\Psi$ ) utilizando la cámara de presión tipo Scholander y la temperatura foliar ( $T_h$ ) con un termómetro infrarrojo, ambas variables a las 8, 14 y 19 horas. Los datos obtenidos fueron analizados mediante un ANDEVA como un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y cinco repeticiones utilizando el programa SAS (2010) y prueba de comparación de medias de Tukey ( $P=0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observaron grandes contrastes durante el ciclo biológico de las variedades de caña de azúcar estudiadas, en términos de temperatura del aire (Cuadro 1). Durante el ciclo se registraron temperaturas  $\geq 35$  °C que representaron 26.3% del total de días desde la siembra hasta el corte, y temperaturas  $\geq 40$  °C (2.5%). En ambos casos representaron condiciones desfavorables para el proceso metabólico de las plantas, aunado a la condición de temporal, con altos riesgos de estrés hídrico. El daño a la membrana celular es un indicador de la tolerancia al calor (Rahman *et al.*, 2004); valores bajos indican alta termo estabilidad de la membrana (genotipos tolerantes), mientras que valores altos indican baja termo-estabilidad (genotipos susceptibles). Para este estudio el análisis estadístico indicó diferencias significativas ( $P<0.05$ )

en el DMC entre variedades. Esto significa que variedades como Mex 68-1345 y CP 72-2086 tuvieron un DMC menor que los que presentan las variedades

Mex 79-431 y Mex 68-P-23 (Figura 1); es decir de acuerdo con estos valores y lo señalado por Rahman *et al.* (2004), se podrían considerar como tolerantes al calor y recomendarlas con mayor confiabilidad para siembra en zonas como el sur de Tamaulipas, donde la temperatura excede durante algunos días del ciclo (Cuadro 1), la temperatura óptima para el cultivo, pero sobre todo en épocas críticas del desarrollo. Las variedades tolerantes superaron a las susceptibles con 14.4% en el DMC.

El DMC se relacionó de manera directa con el  $\Psi$  y la  $T_h$ . Las variedades estudiadas mostraron un  $\Psi$  significativamente diferente ( $P<0.05$ ) en las horas de muestreo. El  $\Psi$  se vio reducido hacia el mediodía en todas las variedades como resultado del incremento de la  $T_{aire}$  (Figura 1). La variedad Mex 68-1345 con un DMC bajo y Mex 68-P-23 con un DMC alto mantuvieron el  $\Psi$  más alto durante las horas de mayor temperatura, pero no las variedades CP 72-2086 y Mex 79-431, la primera junto con CP 72-2086 consideradas como tolerantes al calor por la prueba del DMC, aunque para las 18 h, la recuperación de CP 72-2086 a las condiciones de calor ocurridos durante el mediodía, junto con Mex 68-P-23 y Mex 79-431 fue significativa, alcanzando valores del  $\Psi$  superiores al inicial durante el mismo día; dicha respuesta no fue similar para Mex 68-1345. Esta respuesta podría ser atribuida probablemente a diferencias en el potencial osmótico.

La  $T_h$  se incrementó en todas las variedades a medida que avanzó la hora del día hasta alcanzar un promedio de 36.4°C a las 14.00 h (Figura 2). Posterior a esta hora y como

**Cuadro 1.** Temperatura del aire medida durante el ciclo biológico y su duración de cuatro variedades de *Saccharum* spp.

Variable	Total
Temperatura máxima promedio (°C)	29.4
Temperatura mínima promedio (°C)	18.3
Temperatura promedio (°C)	23.8
Días $\geq 35$ °C	124
Días $\geq 40$ °C	12
Duración del ciclo planta (días)	472

resultado de la reducción de la  $T_{aire}$ , las plantas tuvieron una recuperación gradual hasta las 19.00 h; solo la variedad Mex 68-1345 redujo la  $T_h$  de manera significativa ( $P < 0.05$ ) a través de la transpiración hasta un promedio de 28.3 °C. Lo anterior demuestra la capacidad de la variedad Mex 68-1345 para crecer en ambientes donde existen riesgos de estrés por calor. La  $T_{aire}$  durante las horas de mayor calor fue de 37.4 °C; durante esas horas de sólo la variedad Mex 68-1345 no reguló su temperatura foliar, ya que la  $T_h$  fue muy similar a la  $T_{aire}$  (Figura 3).

En general, se observan diferencias entre variedades para el DMC, sin embargo, se podría obtener una respuesta más clara estudiando una temperatura más alta a la establecida en la metodología utilizada; dicha sugerencia es avalada por Castro (2013) en maíz (*Zea mays* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), ya que según Blum y Ebercon (1981) temperaturas superiores a 40 °C, utilizadas en la prueba provocan incrementos en el DMC, lo cual puede ser favorable para establecer diferencias más reales. Sin embargo, de acuerdo a las inconsistencias en las variables evaluadas, es recomendable seguir estudiando la respuesta de estas variedades de caña al estrés por calor y probablemente al estrés hídrico con mayor detalle.

### CONCLUSIONES

Las variedades Mex 68-1345 y CP 72-2086 registraron la mayor tolerancia al calor en base a la prueba de termo estabilidad de la membrana celular. Esta capacidad de tolerar el calor se vio también reflejada en un mayor potencial hídrico durante las horas de calor, principalmente de la variedad Mex 68-1345 además de mayor capacidad de recuperación en base a la temperatura foliar durante la tarde alcanzando la temperatura más baja de todas las variedades evaluadas.

### LITERATURA CITADA

Bajji M., Kinet J.M., Lutts S. 2001. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regul.* 36:61-70.

Barnabás B., Jäger K., Fehér A. 2008. The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant Cell Environ.* 31: 11-38.

Blum A., Klueva N., Nguyen H.T. 2001. Wheat cellular thermotolerance is related to yield under heat stress. *Euphytica* 117:117-123.

Castro N.S., Ramos O.V.H., Huerta A.J. 2012. Uso de la termoestabilidad de la membrana celular para la estimación de la tolerancia al calor en maíz. *Interciencia* 37(12):921-926.

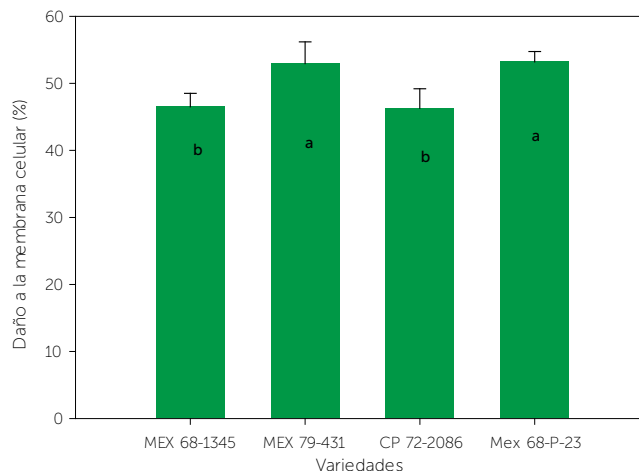


Figura 1. Daño a la membrana celular (DMC) en cuatro variedades de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) obtenido mediante la metodología de la termo estabilidad de la membrana celular.

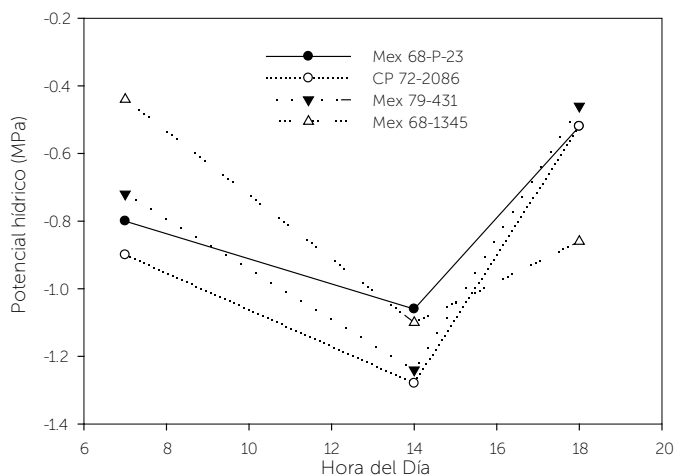


Figura 2. Potencial hídrico total en hojas de cuatro variedades de *Saccharum* spp., a diferentes horas del día.

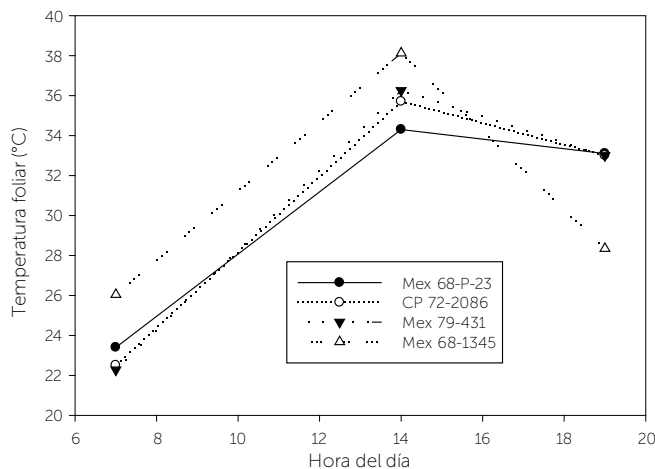


Figura 3. Temperatura foliar de cuatro variedades de *Saccharum* spp., a diferentes horas del día.

- Castro N.S. 2013. Temperatura óptima y etapa fenológica para determinar la termoestabilidad de la membrana celular en maíz y frijol. *PHYTON* 82:249-254.
- Djanaguiraman M., Prasad P.V.V., Boyle D.L., Schapaugh W.T. 2011. High-temperature stress and soybean leaves: leaf anatomy and photosynthesis. *Crop Sci.* 51:2125-2131.
- Fokar M., Nguyen H.T., Blum A. 1998. Heat tolerance in spring wheat. I. Estimating cellular thermotolerance and its heritability. *Euphytica* 104:1-8.
- Gomathi R., Yukashini K., Shiyamala S., Vasantha S., Suganya A., Rakkiyappan P. 2013. Induced response of sugarcane variety Co 86032 for thermotolerance. *Sugar Tech* 15(1):17-26.
- IPCC. 2007. Intergovernmental Panel on Climate Change fourth assessment report. *Climate Change 2007*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Martineau J.R., Specht J.E., Williams J.H., Sullivan C.Y. 1979. Temperature tolerance in soybeans. I. Evaluation of a technique for assessing cellular membrane thermostability. *Crop Science* 19:75-78.
- McDaniel R.G. 1982. The physiology of temperature effects on plants. *In*: Christiansen, M.N., and Lewis C.F. (eds), pp. 13-45. *Breeding plants for less favorable environments*. Wiley, New York. 459 p.
- Rahman H.U., Malik S.A., Saleem M. 2004. Heat tolerance of upland cotton during the fruiting stage evaluated using cellular membrane thermostability. *Field Crops Res.* 85: 149-158.
- SAS Institute. 2010. *SAS/STAT User's guide: Version 9.2* SAS Institute, Inc. Cary, North Carolina, U.S.A. 1689 p.
- Shrivastava A.K., Solomon S., Rai R.K., Singh P., Chandra A., Jain R., Shukla S.P. 2015. Physiological interventions for enhancing sugarcane and sugar productivity. *Sugar Tech* 17(3):215-226.
- Sudhakar P., Latha P., MuneenfraBabu A. 2010. Evaluation of sugarcane genotypes for high water use efficiency and thermostability tolerance under imposed moisture stress at formative stage. *Sugar Tech* 12(1):72-75.
- Sullivan C.Y. 1972. Mechanisms of heat and drought resistance in grain sorghum and methods of measurement. *In*: Rao, N.G.P. and House L.R. (eds). pp. 247-264. *Sorghum in the seventies*. Oxford & IBH Publishing Co. New Delhi, India. 638 p.
- Sullivan C.Y., Ross W.M. 1979. Selecting for drought and heat resistance in grain sorghum. *In*: Mussell, H., Staple R. (eds). pp. 263-281. *Stress physiology in crop plants*. Wiley Interscience. John Wiley and Sons. New York. 510 p.
- Thiaw S., Hall A.E. 2004. Comparison of selection for either leaf electrolyte-leakage or pod set in enhancing heat tolerance and grain yield of cowpea. *Field Crops Research* 86: 239-253.
- Wahid A. 2007. Physiological implications of metabolite biosynthesis for net assimilation and heat-stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts. *J. Plant Res.* 120:219-228.
- Wahid A., Gelani S., Ashraf M., Foolad M.R. 2007. Heat tolerance in plants: An overview. *Environ. Exp. Bot.* 61:199-223.
- Wang W., Vinocur B., Altman A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218: 1-14.

