

REVISION SOBRE DIVERSOS ASPECTOS RELACIONADOS CON LA TOLERANCIA AL ESTRES DE CALOR EN PLANTAS

Lourdes Iglesias

INTRODUCCION

Los grandes avances alcanzados en el campo de la Biología Molecular, particularmente con la introducción de la tecnología del ADN recombinante en diversos estudios de plantas, han posibilitado alcanzar una mayor comprensión de aspectos tan relevantes como la organización del genoma vegetal y los mecanismos de regulación genética.

Este último aspecto adquiere una connotación particular en la actualidad, por cuanto se ha planteado (Kuc, 1991) que la respuesta de las plantas ante diferentes factores bióticos (plagas y enfermedades) se encuentra más bien condicionada por cambios en los mecanismos de regulación genética y no tanto por la presencia o ausencia de determinados genes estructurales, lo cual según lo planteado por Lourdes Iglesias (1993), pudiera resultar incluso válida para el caso de la respuesta de las plantas a diferentes estrés ambientales.

Como se sabe, las plantas exhiben una notable flexibilidad en cuanto a la amplia diversidad de ambientes, incluyendo aquellos realmente hostiles en que las mismas pueden llegar a crecer y perpetuarse. De acuerdo con Levitt (1980) y Buddenhagen (1983), las diferentes causas de estrés que pueden actuar sobre un organismo pueden ser agrupadas en seis clases: agua, condiciones minerales, aire, temperatura, luz y factores biológicos. Como se puede apreciar en la tabla I, los organismos pueden mostrar una reacción

Tabla I. Naturaleza de la resistencia a estrés, según Levitt (1980) y Buddenhagen (1983)

Estrés Potencial	Condiciones de resistencia de células vegetales sometidas a estrés y supervivencia debido a:	
	Evitación	Tolerancia
Bajas temperaturas	Templado	Frío
Altas temperaturas	Frío	Caliente
Sequia	Alto potencial agua	Bajo potencial agua
Alta irradiación	Baja absorción	Alta absorción
Alta salinidad	Baja salinidad	Alta salinidad
Inundación	Alto oxígeno	Bajo oxígeno
	Condiciones en la interacción planta completa/patógeno debido a:	
	Evitación	Tolerancia
Enfermedades virósicas (Patógeno sistémico)	Inmunidad o Hipersensibilidad	Lenta reproducción del virus o baja sistematicidad viral
Manchas foliares (Patógeno localizado)	Inmunidad o Hipersensibilidad o lento crecimiento del patógeno y reproducción	Respuesta reducida al daño o compensación por daño o por alta proporción "sink/source"

de resistencia, ya sea evitando o tolerando la acción del agente estresante.

Modernamente se tiende a ver el estrés con carácter general, como diferentes situaciones que se apartan de la situación óptima y que genera así una cadena de respuestas positivas y negativas en el organismo. Estas respuestas pueden tener diferentes grados adaptativos, según el factor desencadenante y las características genéticas y fenotípicas de la especie y variedad.

De especial interés dentro de este contexto resulta, como plantean Barceló y Poschenrieder (1992) para el caso de la respuesta de las plantas a metales pesados, el enfoque en los cambios de respuesta al considerar el comportamiento del organismo respecto al factor de estrés o sobrecarga. De hecho, como se puede apreciar en la figura 1, donde se muestran las fases de respuestas a estrés en

plantas, según Larcher (1987), tras una fase de alarma que produce la reacción al estrés, se inicia un período de restitución que puede llevar a una fase de resistencia. Esta, a su vez, puede culminar en una fase de agotamiento en los casos de lesiones crónicas.

Como vemos, en este concepto se encuentra implícito el carácter de sobrecarga del factor de estrés y el estado de respuesta o tensión que genera en el organismo.

Debe destacarse que en el caso específico de las plantas, se han logrado notables avances desde los años 1970, particularmente con la evolución del concepto y enfoque del estrés en las plantas dado por Levitt (1980), quien llegó a equiparar la planta con un sistema físico, que permite los análisis cualitativos y cuantitativos de las respuestas y más recientemente con el enfoque ecofisiológico dado principalmente por Larcher (1987), sin olvidar lo

Dra. Lourdes Iglesias, Investigador Titular del Departamento de Genética y Mejoramiento Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal No. 1, San José de las Lajas, La Habana, Cuba.

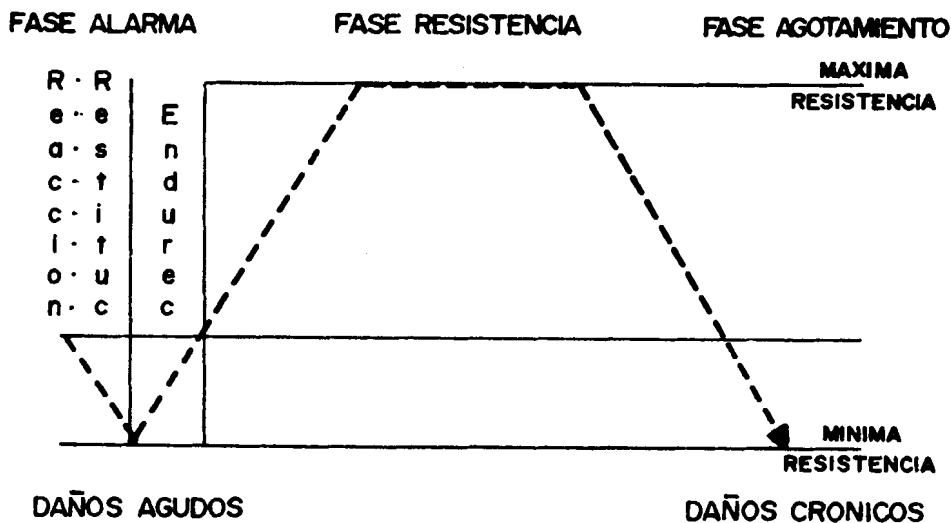


Figura 1. Fases de respuesta a estrés en plantas (según Larcher, 1987)

ya planteado por Seyle (1973), en relación con que los factores estresantes originan reacciones tanto específicas como inespecíficas en todos los organismos.

De hecho, en la evolución de los mecanismos de resistencia y (o) tolerancia de las plantas a los diferentes agentes estresantes, puede observarse la existencia de grados de susceptibilidad y de resistencia muy diferentes, tanto desde el punto de vista de los mecanismos como de la amplitud y distribución entre las diversas especies, e incluso variedades o ecotipos dentro de una misma especie. En general, puede decirse que la complejidad en el grado de resistencia y en los modelos de comportamiento de las plantas, ante los diferentes factores bióticos y abióticos, evidencian la diversidad de estrategias que han logrado desarrollar las plantas a través de su curso evolutivo.

Al respecto, cabe recordar que la resistencia y (o) tolerancia a los diferentes agentes estresantes, se encuentran conferidas por caracteres expresados en los cuatro niveles de organización: desarrollo, estructural, fisiológico y metabólico. De este modo, mientras que algunas plantas presentan una gran plasticidad fenotípica, en otras, la tolerancia muestra claramente una base genética, que parece depender de varios genes con caracteres aditivo y dominante, aunque también se han hallado

casos de tolerancia ligados a un único gen (Kerridge y Kronstad, 1968; Blum, 1988; Hall, 1990).

De acuerdo con Nagao, Kimpel y Key (1990), las plantas parecen expresar clases de proteínas específicas al tipo de estrés al cual se encuentran sometidas. Así, según este autor, la aparente diferencia en la respuesta de las plantas a los distintos factores estresantes, puede reflejar la necesidad que estas tienen, como organismos no móviles, de mantener una respuesta altamente refinada ante cada una de la amplia gama de estrés, a las cuales estas se encuentran rutinariamente expuestas.

Sin embargo, como indicara Lourdes Iglesias (1993), abundan los ejemplos acerca de la existencia de una intrincada coordinación en la respuesta, tanto de los organismos procarionóticos como eucarióticos, ante la diversidad ambiental, lo que sugiere que muchas vías de señalización poseen conjuntos solapantes de respuestas que utilizan componentes comunes.

Como se sabe, la célula puede presentar numerosos lugares de acción primaria de los agentes estresantes. Las membranas y el núcleo constituyen sin duda puntos claves, aunque resultan de gran importancia las interacciones de estos sobre la estructura y propiedades de la pared celular.

De hecho, en el conocimiento científico actual, la estructura y función de las membranas (Larson y Moller, 1990) muestran una fina ordenación molecular capaz de captar selectivamente unas sustancias respecto a otras, de recibir, traducir y amplificar señales, de regular vectorialmente el flujo y la concentración de las diversas sustancias, por medio de sistemas de bombas y transportadores, de disponer de canales iónicos específicos con "puertas" de regulación fisiológica del flujo y de poseer una compleja ordenación de potenciales de membranas, entre otras características.

Cabe significar dentro de este contexto, que muchos agentes estresantes ocasionan similares alteraciones estructurales, fisiológicas e incluso bioquímicas, que conllevan a fuertes implicaciones metabólicas y ocasionan una reducción del crecimiento. Dentro de estas se distinguen los efectos primarios que muchas de ellas producen sobre la pared celular, la integridad de las membranas, la cadena de transporte electrónico y la actividad enzimática, entre otras.

Diversos estudios de campo, por ejemplo, han indicado que la sequía se encuentra, por lo regular, asociada con las altas temperaturas, de manera que resulta difícil de separar los efectos de estos dos factores en la producción agrícola. Según Stevens (1981),

aún con una humedad adecuada del suelo, las altas temperaturas pueden producir severas deficiencias de agua, aunque estos déficits pueden ser transitorios.

Los resultados obtenidos por Barceló y Poschenrieder (1992), en el caso de los metales pesados, han permitido precisar que las plantas pueden presentar una tolerancia múltiple, aunque solo en algunos casos se ha podido apreciar la existencia de una cotolerancia, es decir, tolerancia a un metal no presente inducido por otro presente (Cox y Hutchinson, 1980). Es por todo ello, que dichos autores afirman que no parece existir un mecanismo específico general de acción, teniendo en cuenta sobre todo lo variado de las propiedades de los metales pesados.

Dados los aspectos comunes, que dentro de toda la diversidad de respuestas específicas se pueden originar de las interacciones planta-tipo de factor estresante en cuestión, se considera de crucial importancia el esclarecimiento de las respuestas inespecíficas de las plantas ante los diversos tipos de estrés, como base para dilucidar posibles mecanismos comunes de respuestas homeostáticas, que pudiesen dar lugar a mecanismos de resistencia a factores bióticos y abióticos.

Como indicara Barceló y Poschenrieder (1992), los mecanismos homeostáticos son de diversa índole y pueden actuar a los niveles celular e intercelular, para una mejor integración de las funciones. Dentro de este contexto, cabe señalar que muchas de las respuestas enzimáticas, sobre todo las consideradas como características del metabolismo de estrés, son también respuestas adaptativas, que favorecen una protección inespecífica de los daños causados por los factores estresantes. De igual forma, en el caso de las hormonas también hay indicios de respuestas intercelulares, que tienen un valor adaptativo e integrador de las respuestas fotosintéticas y del balance hídrico frente a los efectos de toxicidad que pueden producir los metales pesados en la raíz. Indicadores efectivos en muchas de estas interacciones lo constituyen, entre otros, el ácido abscísico, las citoquininas, el etileno y las poliaminas (Poschenrieder, Gunse y Barceló, 1989).

En general, estos mecanismos de respuesta homeostática pueden dar lugar en algunos casos, a mecanismos propiamente de resistencia o tolerancia. En este sentido debe distinguirse, como plantea Alscher y Cumming (1990), lo relativo a las respuestas a corto plazo o aclimatación de las de largo plazo o adaptación.

Dentro de estas, las respuestas a corto plazo o aclimatación resultan de particular interés, para resolver los serios daños que en la producción agrícola ejercen los diferentes agentes estresantes. Teniendo esto en consideración, así como los efectos severos que ocasionan las altas temperaturas, durante los estadios críticos de las plantas en la productividad agrícola, se examinarán en este trabajo los aspectos más relevantes relacionados con la expresión de termoequidad, especialmente en algunos cultivos que, como el tomate y la soya, constituyen modelos genéticos de estudio.

RESPUESTA DE LAS PLANTAS AL ESTRÉS DE CALOR

La adaptación a condiciones ambientales adversas como el calor, resulta esencial a muchas especies vegetales. La aclimatación al calor constituye una respuesta adaptativa de las plantas a las altas temperaturas, que guía a un incremento de la tolerancia al excesivo calor extracelular. De acuerdo con Stivens (1981), entre los principales mecanismos de la resistencia al calor se encuentran: el escape y la tolerancia. El primero está dado por la presencia de características en las plantas, tales como la transmisividad y el enfriamiento transpiracional que pueden, de este modo, reducir el exceso de calor en relación con la temperatura del aire, mientras que la tolerancia se presenta cuando la planta ha desarrollado algunos mecanismos que le permiten crecer y continuar desarrollándose en mejores condiciones que las plantas susceptibles, durante los períodos de estrés al calor.

Al respecto, cabe significar que la velocidad con que se pueden presentar los cambios de temperatura y el grado que estos pueden alcanzar, constituyen dos de los factores que más contribuyen a incrementar la intensidad del

estrés por calor. Sin embargo, como apuntaron Chen, Shen y Li (1982), resulta difícil definir adecuadamente la presencia del estrés por calor en las plantas, ya que la respuesta de las mismas a este factor ambiental depende fundamentalmente de la adaptación térmica, de la duración de la exposición y del estado de crecimiento de los tejidos expuestos.

En general, como señalara Stivens (1981), los efectos de las altas temperaturas pueden, entre otras, provocar en las plantas perturbaciones metabólicas y lesiones bioquímicas, que conllevan a la acumulación de compuestos tóxicos y deficiencias de metabolitos esenciales en general. Por otro lado, las altas temperaturas pueden provocar cambios en la permeabilidad de las membranas, necrosis parciales, defoliaciones e incluso causar la muerte del tejido.

Dentro de este contexto, cabe indicar que algunos procesos fisiológicos tan importantes como la respiración y la fotosíntesis, resultan también afectados por el estrés de temperatura.

De acuerdo con Bjorkman, Radger y Armond (1980), el comportamiento fotosintético superior que puede presentarse, tanto a altas como a bajas temperaturas, resulta en gran medida atribuible a los cambios que se producen en las propiedades intrínsecas del aparato fotosintético a nivel de los cloroplastos. De este modo, la limitación de la fotosíntesis a altas temperaturas, está primariamente compuesta por la estabilidad térmica de los cloroplastos. Los incrementos en la estabilidad térmica, según estos autores, implicaría de hecho cambios en las propiedades de las membranas tilacoides, así como quizás en las enzimas solubles situadas en la parte exterior de estas membranas.

De igual forma, cabe resaltar también los resultados obtenidos por Raison *et al.* (1980), en relación con el importante rol que juegan las membranas en la adaptación de las plantas ante el estrés de temperatura. De acuerdo con estos autores, a medida que se eleva la temperatura se incrementan las interacciones hidrofóbicas, de modo que las proteínas tienden a asociarse más con los lípidos. Sobre esta base, ellos concluyeron que la estabilidad térmica de las

membranas fotosintéticas, se encuentra relacionada con las propiedades físicas de los lípidos de las membranas.

Ahora bien, aunque el proceso de aclimatación a la temperatura constituye un fenómeno bien conocido, se sabe que las plantas difieren grandemente, en su potencial de aclimatación fotosintética a la temperatura, de manera que reflejan los regímenes de temperatura de sus habitats nativos.

Como se sabe, las plantas pueden exhibir una notable flexibilidad en la gama de ambientes en que ellas pueden crecer. Cada planta, sin embargo, se caracteriza por una temperatura óptima de crecimiento, temperatura a la cual los patrones fisiológicos relacionados con el crecimiento, el desarrollo y la reproducción se encuentran expresados en forma óptima. Levitt (1972) llegó a clasificar a la mayoría de las plantas superiores como mesófilas o moderadamente termófilas. Las mesófilas tienen un umbral para estrés al calor entre 35-45°C, mientras que en las moderadamente termófilas su temperatura umbral oscila entre 45-60°C.

En el caso de la papa, por ejemplo, se ha podido establecer que la condición de temperatura óptima de crecimiento se encuentra entre 20-25°C, mientras que se produce la muerte foliar de la misma después de ser sometida durante una hora a temperaturas superiores a 47.5°C (Morpugo, 1983).

Por otra parte, se ha indicado que es muy probable que el mecanismo adaptativo de las especies silvestres a las altas temperaturas, pudo de cierta forma haberse alterado o enmascarado durante el curso de la domesticación (Berry, 1975).

Se conoce que los principales cultivos alimenticios fueron domesticados localmente, a partir de plantas silvestres provenientes de los trópicos y subtropicos seleccionados. Así, mediante un proceso de selección encaminado a lograr una adaptabilidad local máxima, llevada a cabo durante miles de años, ha sido posible que en la actualidad se disponga de una amplia gama de variedades locales, que luego el hombre se ha ido encargando de diseminar a nuevos ambientes lejos de su área de origen, tanto en distancia, latitud como en altitud. De este modo,

estos materiales genéticos comenzaron la evolución de nuevas adaptaciones específicas a los nuevos ecosistemas y patosistemas a los que se enfrentaban, por lo que muchos de los genes involucrados en las adaptaciones primarias se fueron perdiendo; de ahí que las especies silvestres constituyan hoy en día los principales reservorios de genes involucrados en la tolerancia a los factores bióticos y abióticos fundamentales.

De acuerdo con esto, es posible encontrar recursos genéticos para la tolerancia al calor, en las márgenes termales del rango de distribución del cultivo o de sus parientes silvestres. Dentro de este contexto se han hallado relaciones clinales, con respecto a la tolerancia al calor de varios tipos de papa silvestres colectadas en Sur América (Smillie *et al.*, 1983). De hecho, las especies provenientes de bajas altitudes tendieron a ser más tolerantes al calor que las especies de las altas altitudes, aunque de una forma algo imperfecta. Duke (1978), citado por Blum (1988), publicó un estudio muy útil en relación con los rangos de temperatura encontrados dentro de los espacios ecológicos de varias especies vegetales de importancia económica, todo lo cual evidencia la utilidad potencial de los nichos climáticos como una fuente de tolerancia al calor en las plantas cultivadas.

Es precisamente por ello, que entre las estrategias de mejoramiento genético, que actualmente se siguen en esta dirección, se encuentra la detección en los centros de orígenes de aquellos materiales que poseen los genes de resistencia deseados para su incorporación en los cultivares con una alta adaptabilidad local a la región, donde se pretenda efectuar su explotación, considerando además lo planteado por Lourdes Iglesias (1993b) en relación con el componente heredable dado por la historia cultural.

Por otra parte, se debe tener en cuenta que de acuerdo con lo indicado por Alexandrov (1964), las células vegetales no cambian su resistencia al calor al ser expuestas a un amplio rango de temperaturas, pero sí comienzan a responder a través de incrementos en su resistencia, cuando las temperaturas alcanzan la zona de daño y que el endurecimiento por calor constituye una reacción es-

pecífica de las células, como respuesta a la acción del daño por dicho estrés. De acuerdo con Chen, Shen y Li (1982), no se aprecian cambios significativos en la tolerancia al calor en plantas, cuando las mismas se someten a rangos de temperaturas de aclimatación entre 20 y 30°C. Sin embargo, por encima de 30°C se incrementa drásticamente la tolerancia al calor y se aprecia más nítidamente una declinación del efecto de la aclimatación. Esto sugiere que cuando las temperaturas ambientales alcanzan un cierto nivel en la naturaleza, se dispara el mecanismo de aclimatación, lo cual conduce a un incremento de la tolerancia al calor y le permite a las plantas lograr un proceso de endurecimiento más severo ante este estrés.

Sin embargo, el mecanismo de aclimatación puede funcionar solamente dentro de un rango estrecho de temperaturas, resultando este menos eficiente a temperaturas por encima de este rango. De acuerdo con Chen, Shen y Li (1982), las temperaturas para la máxima aclimatación al calor en diversos cultivos, parecen encontrarse en un rango de 35-37°C.

Ahora bien, se cuenta en la actualidad con numerosas evidencias que sustentan el rol de las proteínas 'heat shock' (HSP) en el desarrollo de la termotolerancia (Marmilori *et al.*, 1989; Nagao, Kimpel y Key, 1990; Lin, Roberts y Key, 1984). Estas HSP son sintetizadas tan pronto los organismos son sometidos a temperaturas HS.

En las plantas, la temperatura a la que se logra una máxima inducción de las HSP varía con la especie y en particular con la temperatura normal de crecimiento de las mismas. Así, por ejemplo, el guisante requiere de 37°C de temperatura para lograr una inducción máxima de las HSP, a diferencia del millo cuya temperatura óptima de HS está alrededor de los 45-146°C (Key *et al.*, 1983) y del maíz y la soya que requieren de temperaturas de 40°C (Nagao *et al.*, 1986).

De este modo, la respuesta HS parece ser disparada por una temperatura HS que por lo regular se encuentra entre 8-12°C por encima de la temperatura normal de crecimiento del organismo. Por encima de esa temperatura óptima, la síntesis de proteínas totales

cae precipitadamente, aunque la mayoría de las proteínas que se logran sintetizar a esas altas temperaturas son HSP.

Es muy posible, como plantean Key *et al.* (1985), que las diferencias observadas en las temperaturas óptimas para la síntesis de HSP, tengan algún significado fisiológico relacionado con las adaptaciones climáticas de esas especies, o lo que es lo mismo, con la historia cultural de las mismas, de acuerdo con lo planteado por Lourdes Iglesias (1993b). De cualquier modo, una vez que la respuesta HS es disparada, las células vegetales comienzan a monitorear cuantitativamente las HSP, de modo que cuando la célula dispone de suficiente HSP para cumplimentar su función protectora, se detiene la síntesis de estas (Kimpel y Key, 1985a). De hecho, los organismos deben de alguna forma ser capaces de medir su propia temperatura y mediar en la extensión de la respuesta HS apropiadamente. De acuerdo con Kimpel *et al.* (1990), existen otros factores además de la temperatura del tejido que controlan la síntesis de HSP en soya.

Cabe señalar que diversas clases de tratamientos HS, pueden llevar a la adquisición de termotolerancia en plantas. Así, por ejemplo, en el cultivo del trigo, Blumenthal *et al.* (1990) han encontrado que la aplicación de tratamientos de 39°C durante dos horas resulta más efectiva para la adquisición de termotolerancia, mientras que en el cultivo del tomate, Talanova *et al.* (1983) hallaron que el endurecimiento por calor a 40°C conlleva a una respuesta más rápida a las 12 horas después del tratamiento. En este caso, como bien se puede apreciar en las figuras 2 y 3, se ha detectado que la aplicación de tratamientos térmicos de 40°C por 24 horas en el cultivar Roma, permitió elevar los valores de algunos caracteres como el número y peso de los frutos por planta, con relación a los controles. En soya, por otra parte, se han aplicado diversos tipos de tratamientos como los cercanos a la temperatura óptima por una a dos horas antes del cambio a un tratamiento letal (es decir, dos horas a 45°C); tratamientos a 40°C por una a dos horas seguidos por algunas horas a 28-30°C antes de su exposición a 45°C; incrementos graduales de temperatura (es de-

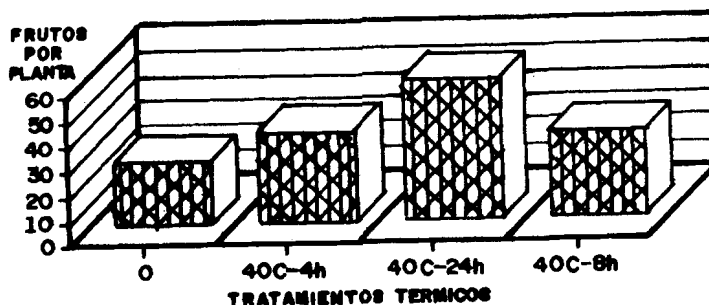


Figura 2. Número de frutos/planta en la variedad Roma sometida a estrés de calor

cir 3°C por hora) por encima de la temperatura normal de crecimiento hasta alcanzar una temperatura de 47.5°C; tratamientos durante cinco a diez minutos a 45°C seguidos por dos horas a 45°C, así como otras combinaciones de tratamientos térmicos (Key *et al.*, 1985; Key *et al.*, 1987; Kimpel *et al.*, 1990; Lourdes Iglesias, 1993, datos no publicados).

Aunque en la mayoría de los tratamientos térmicos aplicados, se ha comprobado que se produce inducción y acumulación de HSP, como también pudiera haber la posibilidad de que fuese en realidad otro producto, en lugar de las HSP los que se acumulasen durante el estrés de calor y por ende fuesen los responsables de la termotolerancia observada, se han desarrollado diversos estudios genéticos encaminados a demostrar el rol de las HSP en la termotolerancia.

Dentro de este contexto, los estudios realizados por Key *et al.* (1985) han indicado que aunque en muchos organismos la respuesta HS puede ser inducida por otros agentes estresantes, tales como el etanol, la anoxia, los análogos de aminoácidos, iones metálicos pesados o arsenito, se ha confirmado que en plantas solamente el arsenito y en menor extensión el cadmio, son capaces de inducir una respuesta bajo temperatura normal que resulta similar a la respuesta HS. En particular, se ha indicado (Key *et al.*, 1985) que en el caso de la soya, la incubación en 50-75 µM de arsenito por tres horas le confiere a la planta la capacidad de tolerar tratamientos a 45°C durante dos horas. En maíz,

el ácido abscísico (ABA) también provoca la inducción de las HSP70 (Heikkila *et al.*, 1984). Aunque como señalaran Sachs y Ho (1986), la significación fisiológica de este tipo de inducción no ha sido del todo esclarecida, estos factores pueden ser empleados como herramientas adicionales para investigar los mecanismos moleculares en que descansa la expresión 'heat shock'.

Por otra parte, los estudios genéticos con diversos tipos de mutantes aislados, tanto de organismos procarionóticos como eucarionóticos que carecen de respuesta HS, sustentan ampliamente el rol de las HSP en la termotolerancia (Craig y Jacobsen, 1984; Loomis y Wheeler, 1982).

De hecho, se ha indicado que la síntesis de proteínas constituye un requerimiento esencial para la adquisición de la termotolerancia al calor y que es muy posible que diferentes proteínas tengan funciones separadas durante los tratamientos de calor a variadas temperaturas (Kimpel y Key, 1985). De acuerdo con Schlesinger, Ashburner y Tissieres (1982) y Lin, Robert y Key (1984), la localización selectiva de los HSP en las estructuras celulares durante el estrés de calor, proporciona la base de la termoprotección.

Entre otros estudios realizados, que sustentan el rol de las HSP en la termotolerancia, se encuentran los desarrollados por Bosch *et al.* (1988), quienes detectaron una especie que como la *Hydra allgactis*, no sintetizan HSP y que, por tanto, resulta incapaz de adquirir termotolerancia. Los re-

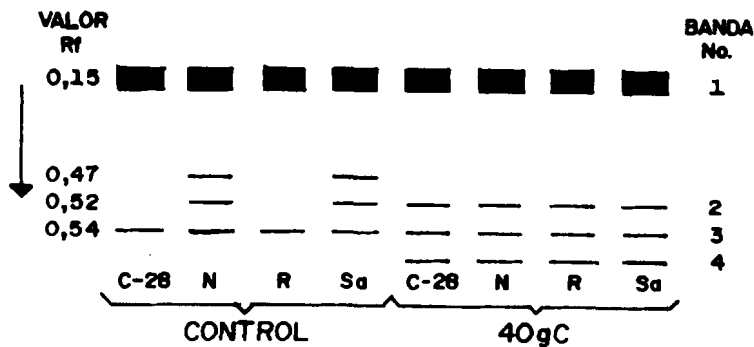


Figura 3. Isoenzima alcohol deshidrogenasa en semillas de cuatro variedades de tomate sometidas a estrés de calor

sultados obtenidos por dichos autores le permitieron sugerir, que la selección para la retención de una fuerte respuesta HS solamente se presenta en organismos que viven en habitats relativamente inestables.

De igual forma, se cuenta actualmente con numerosos resultados que sustentan el rol de las HSP en la expresión de la termotolerancia en eucariotes, los que han sido recientemente revisados por Nagao, Kimpel y Key (1990).

Por otra parte, los resultados provenientes de los estudios de campo también han mostrado que los HSmRNA se acumulan en las plantas de soja cultivadas en campo a altas temperaturas (Kimpel y Key, 1985b). Así, las plantas bajo irrigación, acumulan más HSmRNA que las no irrigadas, lo que indudablemente refleja la capacidad de las plantas cultivadas en campo bajo irrigación, de disminuir su temperatura foliar a través del proceso de evapotranspiración. Estos resultados demuestran que tanto las plantas cultivadas en campo como las de laboratorio, responden a incrementos transitorios de temperatura mediante la síntesis de proteínas HS y la extensión de esta respuesta está además determinada por la severidad del tratamiento de calor aplicado.

Aunque todavía resulta especulativo el rol de la expresión de las HSP en la herencia de la termotolerancia, se cuenta con algunas referencias de trabajos que han correlacionado las diferencias en los patrones de HSP y la herencia de la termoestabilidad en diversos

cultivos (Krishnan, Nguyen y Burke, 1989; Ougham y Stoddart, 1986). Sin embargo, aún no se dispone de evidencias genéticas acerca de la existencia de un posible ligamiento entre la termotolerancia observada con alteraciones específicas en la expresión de las HSP.

De particular interés en esta dirección han resultado los trabajos efectuados por Martineau, William y Specht (1979b), quienes llevaron a cabo un estudio sobre la herencia y selección para la tolerancia al calor en soya usando un criterio fisiológico de selección. Así, encontraron la existencia de suficiente variación genética en la termoestabilidad de la membrana entre progenies de algunos cruces efectuados, empleando progenitores susceptibles y tolerantes al calor. Estos autores además hallaron valores altos de heredabilidad y una ganancia esperada de selección entre 16 y 18 %.

Los trabajos de Fender y O'Connell (1989) efectuados en algodón, han revelado que las diferencias en la expresión de las HSP entre líneas de algodón termosensibles y termotolerantes, no estaban ligadas con el fenotipo termotolerante. Estos mismos autores (Fender y O'Connell, 1990), estudiando la respuesta HS en tomate, encontraron que la respuesta de la F_1 al HS resultaba intermedia a las respuestas parentales, en lo que respecta a la duración de la síntesis de proteínas y la velocidad de recuperación de la síntesis de HSP, al efectuarse el retorno a la temperatura normal, pero, por otra parte, la F_1 indujo

solamente la mitad de las HSP específicas al progenitor *L. esculentum* y prácticamente todas las HSP específicas a *L. pennellii* que fue el otro progenitor tolerante a la sequía empleado en este estudio.

Dentro de este contexto, cabe resaltar también los resultados obtenidos por Iglesias (1993), quien detectó que semillas de dos variedades de tomate con diferente grado de tolerancia al calor presentaban diferencias en los HSP, que se inducen al ser sometidas las semillas previamente endurecidas durante 48 horas a 40°C y las semillas germinadas a temperatura ambiente durante dos y cuatro horas de estrés a 40°C. En este caso, la mayor abundancia de HSP se presentó cuando se analizaron semillas germinadas a temperatura ambiente de la variedad termotolerante expuesta durante cuatro horas a 40°C.

Sin embargo, una situación contrastante ha sido observada en el desarrollo de la termotolerancia en el polen (Altschuler y Mascarenhas, 1982b), donde se ha comprobado que los tubos polínicos desarrollan alguna termotolerancia al ser sometidos a un gradual incremento de la temperatura y no a un típico HS. Estos tubos polínicos no sintetizan HSP en respuesta a las temperaturas elevadas, por lo que estos representan una clase de termoprotección que no correlaciona con la síntesis de HSP (Nagao *et al.*, 1986).

Hon-Qi y Cross (1983) han encontrado que altas cantidades de prolina infiltradas *in vivo* a los granos de polen incrementa su viabilidad a altas temperaturas, por lo que propusieron que el alto contenido de prolina que se encuentra en forma habitual en el polen de muchas especies vegetales juega un rol importante en la protección de la viabilidad del polen ante el estrés de calor. De hecho, se ha encontrado que la prolina y la betaína están implicadas en la protección de la actividad enzimática a altas temperaturas (Paleg *et al.*, 1981), aunque estos osmoprotectores parecen estar implicados en la defensa de las plantas a otros agentes estresantes, como la salinidad y sequía (Binzel *et al.*, 1987; Chandler y Thorpe, 1987; Mostah y Michel, 1987).

Cabe significar que otros autores, trabajando con levadura (Hall, 1983) y fibroblastos de rata (Wideltz, Magun y Gerner, 1986),

no han detectado tampoco correlación de la expresión de la termotolerancia con la síntesis de HSP, lo que llevó a Laszlo (1988) a proponer la existencia de al menos dos vías para el desarrollo de termotolerancia inducida por el calor, una de las cuales se requiere de la síntesis de proteínas.

Ahora bien, en el caso de la termotolerancia que se correlaciona con la síntesis de HSP, se ha confirmado que esta persiste por muchas horas. Lin, Roberts y Key (1984) indicaron que estas proteínas son relativamente estables y permanecen en la célula durante al menos 21 horas después de ser sometidos a estrés, mientras que Vierling (1990) demostró en guisantes que estas se encuentran presentes en niveles significativos, incluso hasta tres días después de efectuado el estrés. En tomate, Fender y O'Connell (1990) encontraron que ante 'heat shock' persistentes, se induce también persistentemente la síntesis de HSP.

Dentro de este contexto, es importante tener en cuenta los resultados obtenidos por Talanova *et al.* (1983), quienes revelaron que la respuesta a la temperatura en tomate se manifiesta con un cambio en la toma de oxígeno y del coeficiente respiratorio, así como por un incremento de la actividad de las deshidrogenasas, de modo que a temperaturas letales se producen serios daños en la actividad funcional del sistema respiratorio. De hecho, según estos autores, la reorganización del proceso respiratorio parecer ser un elemento necesario durante este proceso, porque para adquirir una mayor resistencia al calor se requiere de una cierta cantidad de energía. Así, se concluyó que existe una estrecha interrelación entre el nivel de termoresistencia y el intercambio gaseoso por respiración en plantas.

Otros autores como Mehva, Shukla y Paude (1991) han desarrollado diversos estudios encaminados a dilucidar los mecanismos de tolerancia al calor en trigo. Dentro de este contexto cabe asimismo resaltar los resultados obtenidos por Lourdes Iglesias (1993, datos no publicados), en relación con la presencia de variaciones sustanciales en los perfiles

de isoenzimas alcohol deshidrogenasa, en genotipos de tomate susceptibles y tolerantes al calor, al ser sometidas las semillas a estrés de temperatura (Figura 4).

Como se sabe, el alcohol deshidrogenasa es la principal enzima terminal en el proceso de fermentación alcohólica y es responsable de la recirculación del NAD^+ durante la anoxia. De acuerdo con Cooper y Ho (1983), y Sachs y Ho (1986), esta isoenzima se encuentra muy vinculada con la respuesta a los estrés de calor y anaerobiosis, y con excepción de unas pocas diferencias cualitativas y cuantitativas, se ha informado (Okimoto *et al.*, 1980) la existencia de notables similitudes en los patrones de síntesis proteica inducida por dichos factores abióticos, como una vía de producir una mayor cantidad de ATP cuando existe un déficit de oxígeno.

De acuerdo con Teeri (1980), los datos disponibles de animales ectotérmicos y de plantas superiores, indican que existe una considerable variabilidad entre las especies en cuanto a su dependencia térmica de la función enzimática. Esta variabilidad puede reflejar diferentes medios de obtener una adaptación metabólica ante las fluctuaciones de temperatura. Algunas de las proteínas inducidas pueden funcionar como agentes protectores a temperaturas extremas, mientras que en otros casos los cambios en el contenido proteico pueden estar directamente relacionados con alteraciones en el funcionamiento proteico ante la nueva condición de temperatura. En otros casos, sin embargo, algunas enzimas no experimentan cambios estructurales o funcionales aparentes en respuesta a los cambios en la temperatura ambiental, como ha sido entre otros

Indicado por Lourdes Iglesias (1993, datos no publicados), para el caso de los sistemas peroxidasa y esterasas en tomate, lo que sugiere, de modo, que les permitan funcionar en condiciones térmicas alteradas.

Es posible que, como indican Nagao *et al.* (1986), este tipo de termotolerancia resulta diferente de la adaptabilidad que muestran algunas especies vegetales, como las plantas del desierto, a ambientes de temperaturas en extremo elevadas. Estas especies sobreviven en tales habitats, debido a la presencia de notables modificaciones tanto en la morfología, el metabolismo, como en la estructura de la membrana (Berry y Bjorkman, 1980). Sin embargo, no se excluye que estas especies vegetales muestren también respuesta HS, cuando la temperatura ambiente exceda sustancialmente su temperatura normal de crecimiento.

Ahora bien, con independencia del o los mecanismos que operan en la inducción y el mantenimiento de la termotolerancia en plantas, los resultados experimentales obtenidos por diversos autores (Chen, Shen y Li, 1982; Blumenthal *et al.*, 1990) confirman la posibilidad del empleo de tratamientos térmicos con este fin. Al respecto, Yarwood (1961) había demostrado que la tolerancia térmica o "adaptación" a las altas temperaturas podía ser inducida por un tratamiento durante 20 segundos a 55°C , seguido por varias horas a la temperatura normal de crecimiento, aunque como demostraran Kimpel *et al.* (1990), en soya la respuesta de las plantas a un HS particular depende de su previa exposición al calor, o lo que es lo mismo, de su nivel de preaclimatación, ya que las plántulas de

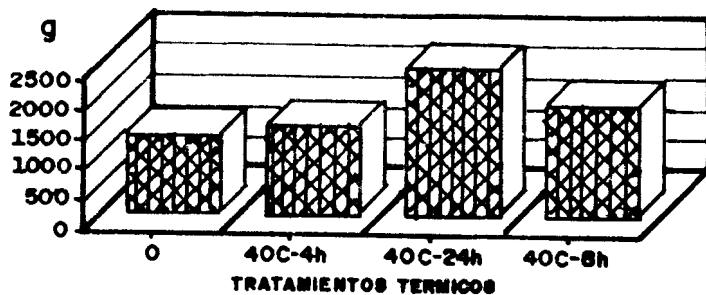


Figura 4. Peso de frutos/planta en la variedad Roma sometida a estrés de calor

soya pretratadas con calor para inducir termotolerancia respondían más moderadamente a un corto pulso de calor a 45°C.

En general, como apuntaron Chen, Shen y Li (1982), estos niveles de preaclimatación permanecen constantes con la edad, a diferencia de la adaptabilidad al calor, que sí resulta afectada por la edad de la planta. Al respecto, Aung (1979) ha señalado que las plántulas de tomate resultan mucho más sensibles cuando se someten a tratamientos térmicos inmediatamente después de la fase de extensión cotiledonal, lo cual fue posteriormente confirmado por Chen, Shen y Li (1982). Estos últimos autores indicaron que es precisamente el estado cotiledonal el más sensible al calor, si se compara con los estadios posteriores, dado el más bajo potencial para la adaptación al calor que se presenta en dicho estadio.

De acuerdo con estos autores, el mejoramiento para la obtención de genotipos altamente productivos en condiciones de alta temperatura, debe efectuarse sobre la base de seleccionar aquellos genotipos que muestren una elevada adaptabilidad al calor, más que aquellos que presentan altos niveles de preaclimatación por procesos inducidos de endurecimiento al calor. Con este fin, se pueden llegar a distinguir los genotipos que presentan una alta adaptabilidad al calor, sometiendo a las plantas a temperaturas por encima de 30°C durante no menos de 12 a 24 horas, mientras que aquellos que muestran endurecimiento se pueden detectar, midiendo por conductimetría los iones que se liberan inmediatamente después de efectuado un pretratamiento del tejido foliar a 50°C (Chen, Shen y Li, 1982).

El método de conductimetría empleado por primera vez en este tipo de estudio por Sullivan (1972), citado por Blum (1988), ha sido utilizado en estudios de estrés de calor por diversos autores trabajando en una gran diversidad de cultivos (Martineau, William y Seecht, 1979a; Chen, Shen y Li, 1982; Min-Ize y Wallner, 1983; Lin, Roberts y Key, 1984; Bozza *et al.*, 1993).

Este método conjuntamente con otros como el de Mazkov, las tinciones de vitalidad de los tejidos, las pruebas de fertilidad y la

germinación del polen así como las variaciones en las composiciones proteica e isoenzimática, constituyen algunas de las técnicas cuya utilidad potencial como método de "screening" temprano se están valorando actualmente, para ser usadas en los programas de mejoramiento en la tolerancia al calor, que se están desarrollando en los cultivos de tomate y soya (Bozza *et al.*, 1993; Alvarez *et al.*, 1994; Lourdes Iglesias *et al.*, 1993, datos no publicados).

A partir de estos resultados y de otros que se esperan obtener con la introducción de diversos métodos de "screening", se podrá formular una metodología para la selección rápida y eficiente de genotipos de tomate y soya tolerantes a este factor abiótico, a la vez que pueda brindar una información teórica que ayude a esclarecer algunas incógnitas específicamente en torno al proceso de aclimatación al calor.

Con este fin, pueden resultar de particular interés los numerosos materiales genéticos de tomate y soya preaclimatados, que pasarán a estudiarse próximamente en las épocas de primavera y verano, que se caracterizan en Cuba por presentar elevadas temperaturas.

Sin dudas, en la medida en que se logre profundizar en diferentes niveles: molecular, celular, fisiológico, bioquímico, geobotánico, ecológico, etcétera, se podrá alcanzar una mayor comprensión de los mecanismos regulatorios involucrados en la expresión, particularmente de la tolerancia al calor, para lo cual las plantas en razón de su fisiología abierta al medio ambiente y su gran flexibilidad adaptativa constituyen un laboratorio excepcional de experimentación.

BIBLIOGRAFIA

- Alvarez, Marta, M. Varela y Gladys Verde. Efecto del estrés de altas temperaturas sobre la germinación *in vitro* del polen de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Cultivos Tropicales* 15(1): 61-65. 1994.
- Alexandrov, V. Y. Cytophysiological and cytoecological investigations of Heat Resistance of Plant Cell Toward The Action of High and Low Temperatures. *Q. Rev. Biol.* 39:35-77. 1964.
- Alecher, R. G. y J. R. Cumming. *Stress Responses in Plants: Adaptations and Acclimation Mechanisms*. Wiley-Liss (Nueva York). 1990.

- Altschuler, M. y J. P. Mascarenhas. The Synthesis of Heat-Shock and Normal Proteins at High Temperatures in Plants and Their Possible Roles in Survival Under Heat Stress. In: M. J. Schlesinger; M. Ashburner y A. Tissieres (eds.) *Heat Shock From Bacteria to Man*. Cold Spring Harbor Laboratory (Nueva York). 1982b. - p. 32-327.
- Aung, I. H. (1979). Temperature Regulation of Growth and Development of Tomato During Ontogeny. In: *First International Symposium on Tropical tomato*. AVRDC (Taiwan) Roc. 1979.
- Barceló, J. y Ch. Poschenrieder. Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados. *Suelo y Planta* 2:345-361. 1992.
- Berry, J. A. Adaptation of Photosynthetic Processes to Stress. *Science* 188:644-650. 1975.
- Berry, J. y O. Bjorkman. Photosynthetic Response and Adaptation to Temperature in Higher Plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 31: 491-543. 1980.
- Binzel, M. L. *et al.* Solute Accumulation in Tobacco Cells Adapted to NaCl. *Plant Physiol.* 84:1408-1415. 1987.
- Bjorkman, O. Response and Adaptation of Photosynthesis to High Temperatures. In: *Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress*. N.C. Turner y P. Kramer (eds.) Wiley Interscience (Nueva York). 233-249. 1980.
- Blum, A. Breeding Crop Varieties For Stress Environments. *CRC Critical Review in Plant Science* 2:199-236. 1988.
- Bosch, T. C. G. *et al.* Thermotolerance and Synthesis of Heat Shock Proteins: These Responses are Present in *Azula attenuata* But Absent in *Azula clypeata*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:7927-7931. 1988.
- Boza, Marcela *et al.* Termoeabilidad de la membrana celular en semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum*). *Cultivos Tropicales* (La Habana) (en prensa), 1993.
- Blumenthal, C. *et al.* The Acquisition and Maintenance of Thermotolerance in Australian wheats. *Aust. J. Plant Phys.* 17:37-47. 1990.
- Buendehagen, I. W. Breeding Strategies For Stress and Disease Resistance in Developing Countries. *Ann. Rev. Phytopathol.* 21:385-409. 1983.
- Chandler, S. F. y T. A. Thorpe. Proline Accumulation and Sodium Sulfate Tolerance in Callus Cultures of *Brassica napus* L. cv. Wester. *Plant Cell Rep.* 6:178-179. 1987.
- Chen, H. H., Z.Y. Shen y P. H. Li. Adaptability of Crop Plants to High Temperature Stress. *C. Sci.* 22:719-725. 1982.
- Cooper, P. y T. H. D. Ho. Heat Shock Proteins in Maize. *Plant Physiol.* 71:215-222. 1983.
- Cox, R. M. y T. C. Hutchinson. Multiple Metal Tolerance in Grass *Deshampsia caespitosa* (L.) Beauv. From Sudbury Smelting Area. *New Phytol.* 84:635-647. 1980.

- Craig, E. A. y K. Jacobsen. Mutations of Heat Inducible 70 Kilodalton Genes of Yeast Confer Temperature Sensitive Growth. *Cell* 36:841-849, 1984.
- Fender, S. E. y M. A. O'Connell. Heat Shock Protein Expression in Thermotolerant and Thermosensitive Lines of Cotton. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:3674-3678, 1989.
- Fender, S. E. y M. A. O'Connell. Expression of the Heat Shock Response in a Tomato Interspecific Hybrid Is Not Intermediate Between The Two Parental Responses. *Plant Physiol.* 93:1140-1146, 1990.
- Hall, B. G. Yeast Thermotolerance Does Not Require Protein Synthesis. *J. Bacteriol.* 156:1363-1365, 1983.
- Hull, A. E. Breeding for Heat Tolerance an Approach Based on Whole Plant Physiology. *Hort Science* 25:17-18, 1990.
- Hong-Qi, L. y A. F. Croes. Protection of Pollen Germination From Adverse Temperatures: a Possible Role For Proline. *Plant Cell. Environ* 6:471, 1983.
- Heikkila, J. J. *et al.* Induction of Heat Shock Protein Messenger RNA in Maize Mesocotyls by Water Stress, Abscisic Acid and Wounding. *Plant Physiol.* 76:270-274, 1984.
- Iglesias, Lourdes. Base molecular de los estres abióticos en plantas. *Cultivos Tropicales (en prensa)* 1993a.
- Iglesias, Lourdes. Consideraciones genético-fisiológicas sobre la adaptación ambiental en plantas. *Cultivos Tropicales (en prensa)*, 1993b.
- Kerridge, P. C. y W. E. Kronstad. Evidence of Genetic Resistance to Aluminum Toxicity in Wheat (*Triticum aestivum* Vill. Host). *Agron. J.* 60:710-711, 1968.
- Key, J. L. *et al.* A Comparative Analysis of The Heat Shock Response in Crop Plants. p. 107-118. In: D. D. Randall, D. G. Blevins, R. L. Larson y B. J. Rapp (ed) Current Topics in Plant Biochemistry and Physiology vol. 2. University of Missouri. Columbia. Mo. 1983.
- Key, J. L. The Heat Response in Soybean. p. 161-179. In: J. L. Key and T. Kosuge (ed) Cellular and Molecular Biology of Plant Stress vol. 22. Alan R. Liss, Inc. N. York. 1985.
- Key, J. L. *et al.* Heat Stress: Expression and Structure of Heat Shock Protein Genes. In: "Plant Molecular Biology" (D. von Wettstein and N. H. Chua, eds) pp. 366-387. Plenum, N. York. 1987.
- Kimpel, J. A. y J. L. Key. Presence of heat shock mRNAs in field grown soybeans. *Plant Physiol* 79:672-673, 1985a.
- Kimpel, J. A. y J. L. Key. Heat Shock in Plants. *Trends Biochem. Sci. Pers Ed.* 10:353-357, 1985b.
- Kimpel, J. A. *et al.* Regulation of The Heat Shock Response in Soybean Seedlings. *Plant Physiol.* 84:906-908, 1990.
- Krishnan, M., H. T. Nguyen y J. J. Burke. Heat Shock Protein Synthesis and Thermal Tolerance in Wheat. *Plant Physiol.* 90:140-145, 1989.
- Kuc, J. Mycotoxins and Phytoalexins. C.R.C. Press. Boca Raton. Ann. Arbor. Boston. London 595-603. 1991.
- Larcher, W. Stress bei Pflanzen. *Naturwissenschaften* 74:158-167, 1987.
- Larson, C. The Plasma Membrane. Structure, Function and Molecular Biology. / C. Larson, I. M. Moller. - Springer Verlag (Berlin). 1980.
- Lazalo, A. The Relationship of Heat-Shock Proteins, Thermotolerance and Protein Synthesis. *Exp. Cell Res.* 178:401-414, 1988.
- Levitt, J. Response of Plants to Environmental Stresses. 1. Ac. Press. (Nueva York). 1980.
- Li, C. Y., J. K. Roberts y J. L. Key. Acquisition of Thermotolerance in Soybean Seedlings. Synthesis and Accumulation of Heat Shock Proteins and Their Cellular Localization. *Plant Physiol.* 74:152-160, 1984.
- Loomis, W. F. y S. A. Wheeler. Chromatin-Associated Heat-Shock Proteins of *Dictyostelium*. *Dev. Biol.* 90:412-418, 1982.
- Marmorini, M. *et al.* Induction of Heat Shock Proteins and Acquisition of Thermotolerance in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Variations Associated With Growth Habit and Plant Development. *J. Pl. Physiol.* 135:269-273, 1989.
- Martineau, J. R., J. H. Williams y J. E. Specht. Temperature Tolerance in Soybeans. I. Evaluation of a Technique For Assessing Cellular Membrane Thermostability. *Crop. Sci.* 19:75-78, 1979a.
- Martineau, J. R., J. H. Williams y J. E. Specht. Temperature Tolerance in Soybeans. II. Evaluation of Segregating Populations for Membrane Thermostability. *C. Sci.* 19:79, 1979b.
- Mehra, R., D. S. Shukla y P. C. Pande. Studies on The Mechanism of Temperature Tolerance in Wheat (*Triticum aestivum*). *Indian J. Pl. Physiol.* 34:362-368, 1991.
- Min-Tze, W. y S. J. Wallner. Heat Stress Response in Cultured Plant Cells: Development and Comparison of Viability Tests. *Plant Physiol.* 72:817, 1983.
- Moftan, A. E. y B. E. Michel. The Effect of Sodium Chloride on Solute Potential and Proline Accumulation in Soybean Leaves. *Plant Physiol.* 83:238-240, 1987.
- Morpugo, R. In Search of Physiological Traits Useful as Screening Methods For Heat Tolerance. *Revista di Agricoltura subtropicale e tropicale* 549-568, 1983.
- Nagao, R. T. *et al.* The Heat Shock Response: A Comparative Analysis. *Oxford Surv. Plant Mol. Cell. Biol.* 3:384-438, 1986.
- Nagao, R. T., J. A. Kimpel y J. L. Key. Molecular and Cellular Biology of The Heat-Shock Response. *Advances in Genetics* 28:235-274, 1990.
- Okimoto, R. *et al.* Patterns of Polypeptide Synthesis in Various Maize Organs Under Anaerobiosis. *Planta* 150:89-94, 1980.
- Ougham, H. J. y J. L. Stoddart. Synthesis of Heat Shock Proteins and Acquisition of Thermotolerance in High Temperature Tolerant and High Temperature Susceptible Lines of Sorghum. *Plant Sci.* 44:163-167, 1986.
- Paleg, L. G. *et al.* Proline, Betaine and Other Organic Solutes Protect Enzymes Against Heat Inactivation. *Australian J. Plant Physiology* 3:101-114, 1981.
- Poschenrieder, Ch., B. Gunse y J. Barceló. Influence of Cadmium on Water Relations, Stomatal Resistance and Abscisic Acid Content in Expanding Bean Leaves. *Plant Physiol.* 90:336-371, 1989.
- Raison, J. K. *et al.* Membrane Properties in Relation to The Adaptation of Plants to Temperature Stress. In: Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress. / N. C. Turner y P. J. Kramer (eds.) Wiley International (Nueva York):261-273, 1980.
- Sachs, M. M. y T. H. D. Ho. Alteration of Gene Expression During Environmental Stress in Plants. *Ann. Rev. Plant Physiol* 37:363-378, 1986.
- Soyle, H. The Evolution of The Stress Concept. *American Scientist* 61:693-699, 1973.
- Schlesinger, M. J. In: "Heat Shock: from Bacteria to Man", / M. J. Schlesinger, M. Ashburner, A. Tissieres. - Nueva York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1982.
- Smilie, R. M. *et al.* Tolerance of Wild Potato Species From Different Altitudes to Cold and Heat. *Planta* 159:170, 1983.
- Stevens, A. Physiological Aspects and Genetic Improvement in Tomato. Documento Interno, 1981.
- Talanova, V. V. *et al.* Effect of Temperature on The Thermoresistance and Respiration of Tomato Leaves. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 178:601-605, 1983.
- Teeri, J. A. Adaptation of Kinetic Properties of Enzymes to Temperature Variability. In: Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress. / N. C. Turner y P. J. Kramer. - Wiley International (Nueva York): 251-260, 1980.
- Vierling, E. Heat Shock Protein Function and Expression in Plants. In: "Stress Responses in Plants: Adaptation Mechanisms" (R. Alschner, ed). Liss. N. York. 1990.
- Widelitz, R. B., B. E. Magun y E. W. Gerner. Effects of Cycloheximide on Thermotolerance Expression, Heat Shock Protein Synthesis and Heat Shock Protein mRNA Accumulation in Rat Fibroblasts. *Mol. Cell. Biol.* 6:1088-1094, 1986.
- Yarwood, C. E. Acquired Tolerance of Leaves to Heat. *Science* 134:941-942, 1961.

Recibido: 13 de abril de 1994

Aceptado: 10 de mayo de 1994